

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES ANEMIES HEMOLYTIQUES
AUTO-IMMUNES DU CHIEN.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 26 Octobre 1979

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Catherine OLLEON épouse CHAPPUIS

née le 23 Juillet 1953

à SAINT-ETIENNE (Loire)



ASSOCIATION CORPORATIVE
DES ÉTUDIANTS EN MÉDECINE DE LYON
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD
8, Avenue Rockefeller, 8
69373 LYON Cedex 2



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553407_0045

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES ANEMIES HEMOLYTIQUES
AUTO-IMMUNES DU CHIEN.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 26 Octobre 1979

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Catherine OLLEON épouse CHAPPUIS

née le 23 Juillet 1953

à SAINT-ETIENNE (Loire)



ASSOCIATION CORPORATIVE
DES ÉTUDIANTS EN MÉDECINE DE LYON
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD
8, Avenue Rockefeller, 8
69373 LYON Cedex 2

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DES ANEMIES HEMOLYTIQUES
AUTO-IMMUNES DU CHIEN.

THESE

présentée

A L'UNIVERSITE D'ORLANS par M. L. L.

LE 10 MARS 1919.

Le jury est composé de MM. L. L. L.

pour avis de M. L. L.

par

Catherine OLÉON épouse CHAPUIS

née le 10 Mars 1919.

A Orlans (France).



MAISON FONDÉE EN 1719
PAR M. L. L.
A Orlans (France).

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président : Mr le Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Mr le Professeur EL BAZ

Deuxième Vice-Président : Mr E. OUDIN, Maître Assistant

Troisième Vice-Président : Mlle A. ECHALLON, Etudiante

Secrétaire Général de l'Université : Mr J. RAMBAUD, Administrateur civil

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R)

Faculté de Médecine GRANGE-BLANCHE : Mr le Professeur B. Salle

Faculté de Médecine ALEXIS CARREL : Mr le Professeur R. MORNEX

U.E.R. de Médecine LYON NORD : Mr le Docteur J.P. NEIDHARDT, Maître de Conférences

Faculté de Médecine LYON SUD : Mr le Professeur J. NORMAND

U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques : Mr le Professeur C.A. BIZOLLON

U.E.R. des Techniques de Réadaptation : Mr le Professeur A. MORGON

U.E.R. des Biologie Humaine : Mr J.P. REVILLARD, Maître de Conférences

U.E.R. d'Education Physique et Sportive : Mr A. MILLON, Professeur EPS

U.E.R. des Sciences Odontologiques : Mr le Docteur R. VINCENT

U.E.R. de Mathématiques : Mr le Professeur P. PICARD

U.E.R. de Physique : Mr le Professeur J. DELMAU

U.E.R. de Chimie Biochimie : Mr le Professeur J. HUET

U.E.R. des Sciences de la Nature : Mr le Professeur R. GINET

U.E.R. des Sciences Physiologiques : Mlle le Professeur J.F. WORBE

U.E.R. de Physique Nucléaire : Mr le Professeur M. GUSAKOW

I.U.T. 1 : Mr le Professeur A. VILLE

I.U.T. 2 : Mr J. GALLET, Directeur ENSAM

Observatoire de Lyon : Mr G. MONNET, Astronome Adjoint

U.E.R. de Mécanique : Mlle le Professeur G. COMTE-BELLOT

- DIRECTEUR Monsieur le Professeur COTTEREAU
 - DIRECTEURS HONORAIRES Messieurs les Professeurs TAPERNOUX, FLORIO, FROGET

PROFESSEURS

1° - Pharmacie et Toxicologie	M. LORGUE
2° - Anatomie descriptive - Extérieur - Anatomie appliquée	M. BARONE
3° - Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie	M. BOST
4° - Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique	M. TISSEUR
5° - Hygiène et industrie des Aliments d'Origine Animale	M. FLACHAT M. CHANTEGRELET
6° - Parasitologie et Maladies Parasitaires	M. EUZEBY
7° - Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire	M. FONTAINE
8° - Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-Cour	M. COTTEREAU
9° - Technique chirurgicale - Pathologie Chirurgicale	M. COULON
10° - Obstétrique - Pathologie de la Reproduction	M. BERTRAND
11° - Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR
12° - Ethnologie - Zootechnie - Economie Rurale	M. FROGET
13° - Botanique appliquée - Agronomie - Alimentation	M. WOLTER
14° - Physique et Chimie biologiques et médicales	M. DELATOUR
15° - Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire	M. JOUBERT

.../...

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. DESCHANEL, JEAN-BLAIN, LAPRAS, LE NIHOUANNEN.

MAITRES DE CONFERENCES

MM. BOIVIN, GASTELLU, PRAVE.

MAITRES-ASSISTANTS AGREGES

Melle LAVAL

MAITRES-ASSISTANTS

Mr BELLI, Mme CHAUVÉ, M. EUZÉBY, MM. FRANCK, FAU, GARNIER, GEVREY, GOUY, KECK, LABÉ, LEGEAY, NEYRET, Mme RACHAIL, M. RICHARD.

ASSISTANTS

MM. BEZEAU, CHEVRIER, Melle COURSAT, MM. DEMONT, DENOIX, DESCOTES, Mme FOURNEL, MM. GALEA, GENIN, GUIGUEN, Melle JANUEL, MM. JAUSSAUD, MAY, Melle OLLEON, M. PERROTIN.

EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président : Monsieur le Professeur de la Faculté de Médecine.
Premier assesseur : Monsieur le Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire.
Deuxième assesseur : Monsieur le Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire.

L'Université Claude Bernard (Médecine-Pharmacie) de LYON et l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

A mes parents,

A mon mari,

A mon fils

A toute ma famille,

À tous ceux qui me sont chers,

A Monsieur le Professeur FAVRE-GILLY,
Professeur à la Faculté de Médecine de LYON,

qui a bien voulu nous faire le grand honneur
d'accepter la présidence de notre thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur LAPRAS,
de l'Ecole Vétérinaire de LYON,

qui nous a guidée avec bienveillance et patience tout au long de la réalisation de notre travail.

Notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur FONTAINE,
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être notre juge.

Nous lui sommes très reconnaissante des marques de sympathie qu'il a bien voulu nous témoigner.

Nos sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur JOUVENCEAUX,
Directeur-Adjoint du Centre de Transfusion Sanguine de LYON,

qui a rendu possible la réalisation de ce
travail en nous accueillant avec bienveillance
dans son laboratoire et en nous prodiguant
de précieux conseils.

Notre profonde reconnaissance.

A tous nos Maîtres de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

INTRODUCTION

C'est à l'occasion d'un certificat d'hématologie que nous avons véritablement découvert l'immunohématologie humaine et ainsi pris conscience du retard existant dans la connaissance de cette discipline chez l'animal, et en particulier chez le chien.

Nous avons eu la chance d'effectuer un stage au Centre de transfusion sanguine (Hôpital Edouard Herriot) sous la direction du Pr A. JOUVENCEAUX. Avec son aide (et celle du Dr G. CHAPPUIS de l'IFFA*), nous avons préparé un sérum antiglobuline G de chien.

Assistante depuis 2 ans dans la Chaire d'Anatomie pathologique de l'Ecole Vétérinaire de Lyon, nous avons eu la possibilité de nous insérer dans le courant des recherches sur les maladies auto-immunes spontanées qui sont menées actuellement dans cet école : D'importants travaux sont réalisés, dans le cadre de la pathologie comparée par le Service de Médecine (Pr M. LAPRAS, Dr C. FOURNEL-FLEURY) en collaboration avec le laboratoire d'hygiène de la faculté de Médecine (Pr J.C. MONIER - Dr RIGAL). Ils concernent particulièrement le lupus érythémateux aigu disséminé du chien (LEAD ou LED).

Par notre formation en hématologie, nous nous sommes particulièrement intéressée aux anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) du chien. Nous connaissons l'intérêt particulier de ces maladies chez l'homme : modèle pathogénique privilégié parmi les autres maladies auto-immunes. Nous disposons de plus d'un sérum antiglobuline de chien (AGC) utilisable pour leur diagnostic.

Ce travail est donc, après un historique et une mise au clair des connaissances acquises actuellement sur ces maladies chez le chien, l'exposé de la préparation de notre antiglobuline G, puis de ses applications au diagnostic des AHAI du chien et enfin la discussion des résultats que nous avons obtenus.

* Institut français de la fièvre aphteuse.

LES AHAI DU CHIEN :

HISTORIQUE - CONNAISSANCES ACTUELLES

A - HISTORIQUE

Chez l'homme, l'existence des AHAI, pressentie dès 1909 par CHAUFFARD et VINCENT, a été définitivement établie avec la mise au point du test à l'antiglobuline par COOMBS et coll. (9).

C'est en 1954 que le premier cas d'AHAI chez le chien est rapporté par MILLER et coll. (28). Ils décrivent une affection très comparable à celle de l'homme, caractérisée par une anémie sévère avec sphérocytose, autohémmagglutination et test de Coombs (T.C.) positif. Ils complètent cette étude en 1957 (29) et font des essais de reproduction expérimentale.

DELPECHIN en 1957 (12) et 1958 (13) relate deux cas d'anémie hémolytique (A.H.) intense, régénérative, avec splénomégalie, subictère, bilirubinémie, hémoglobininurie et résistance globulaire diminuée. Cependant, le caractère auto-immun de l'affection ne peut être confirmé du fait de l'absence de réalisation du T.C..

A partir de 1963, LEWIS et coll. (25) (26) rapportent de nombreux cas d'A.H. à T.C. positif. Cependant cette anémie s'accompagne souvent de thrombocytopénie, de glomérulonéphrite et de nombreuses traductions sérologiques d'auto-immunisation. Elle ne semble être alors, qu'une des manifestations de la maladie auto-immune multisystémique qu'est le L.E.D. .

CARROLL en 1964 (5) réalise des observations cliniques comparables à celles de LEWIS et coll. mais ne met pas en oeuvre de T.C.

Dans les années suivantes, on trouve de nouveaux exemples de ce type d'anémie dans la littérature. MACKENZIE en 1969 (27) cite quatre cas dont trois à Coombs positif. Dans le sérum d'un de ces sujets, il met en évidence la présence d'agglutinines froides, mais ne donne guère de détails sur celles-ci. De plus, ce chien n'a manifesté, à part l'A.H., aucun des autres symptômes caractéristiques de la maladie des agglutinines froides.

SCHALM en 1965 (39) et surtout en 1975 (40) rapporte de nombreux cas et fait le point sur les connaissances acquises.

C'est en 1975 également que SLAPPENDEL et coll. (41) décrivent, pour la première fois chez le chien, un cas d'AHAI à agglutinines froides dont la clinique est comparable à celle de cette maladie chez l'homme.

En 1976, UTROSKA (43) rapporte un nouveau cas d'AHAI associée au LEAD et BUNDZA (4) une AHAI associée à une hémobartonellose. GREENE et coll. en 1977 (16), BELLAMY et coll. en 1978 (1), relatent deux cas d'AHAI à agglutinines froides dont l'un accompagné d'une hémobartonellose (1).

Il faut citer, en 1977 également, l'important travail de SLAPPENDEL (42), d'un esprit très différent des précédents : Il rapporte 128 cas de chiens présentant un T.C. positif parmi 388 animaux testés. Ceci lui permit d'obtenir des statistiques sur les différents types d'AHAI chez le chien.

B - ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LES AHAI DU CHIEN

Grâce à ces travaux, nous pouvons donc faire le point sur les connaissances réellement acquises, en ce qui concerne les AHAI du chien.

Pour cela, nous essaierons d'éviter le plus possible l'extrapolation à partir du modèle humain, sur lequel, trop souvent, on calque la pathologie animale.

Le terme d'AHAI s'applique aux états associant une anémie, une hémolyse et la présence d'auto-anticorps (auto-Ac) ou de complément (C) ou des deux simultanément à la surface des hématies.

La nature des auto-Ac est maintenant connue : ce sont des immunoglobulines de type G (IgG), M (IgM) ou plus rarement A (IgA) (42). Mais contrairement à l'homme, nous ne connaissons pas leurs spécificités antigéniques. Sont-ils dirigés contre des antigènes (Ag) de groupe érythrocytaires ? A ce propos, il faut rappeler que, si les groupes sanguins ont été étudiés chez le chien (46) hormis le groupe A qui possède un intérêt transfusionnel (7), ils n'ont jamais été utilisés en pratique.

1 - ETIOLOGIE

Classiquement on distingue, en fonction des circonstances d'apparition :

- les AHAI idiopathiques, lorsque les seuls symptômes observables sont ceux d'une anémie hémolytique.
- les AHAI associées à une maladie sous-jacente ou "secondaires".

Chez l'homme, on sait que des auto-Ac anti hématie peuvent apparaître dans certaines maladies infectieuses (oreillons, rougeole, pneumopathies à mycoplasmes...) et surtout dans certaines maladies du système formateur d'Ac (lymphoréticulopathies, connectivites)...

En pathologie canine, en ce qui concerne les maladies infectieuses et les réticulopathies malignes, l'apparition d'Ac anti-hématies n'a pas été décrite, à notre connaissance. Signalons tout de même l'association à l'hémobartonellose évoquée dans deux articles (4) (1) et l'association à certains cancers, citée par Ponchelon (35).

Ce qui est admis, par contre, chez le chien, c'est l'association à d'autres maladies auto-immunes : thrombocytopénie auto-immune (syndrome d'Evans) (45) et surtout LED (26) (43).

Chez l'homme, d'après Rochant (37) environ 30 % des AHAI seraient idiopathi-

ques et 70 % associés à une autre maladie.

Chez le chien, différents chiffres ont été cités :

Schalm (40) donne, en se basant sur 32 cas étudiés les pourcentages suivants : 70 % AHAI idiopathiques 30 % associées. Slappendel (42) lui, sur 128 cas d'AHAI détermine des chiffres inverses : 30 % idiopathiques et 70 % associées à des maladies sous-jacentes, qu'il ne précise pas. Nous retiendrons plutôt ses chiffres car son étude porte sur un nombre de cas bien supérieur. Remarquons qu'ils correspondent à ceux cités chez l'homme.

2 - PATHOGENIE (d'après JOUVENCEAUX (19)).

Les mécanismes pathogéniques des AHAI sont maintenant bien connus chez l'homme. Il semble que, dans les grandes lignes, la pathogénie des AHAI du chien soit comparable.

On sait, chez l'homme, que ces maladies représentent un "modèle privilégié" parmi des nombreuses maladies dans lesquelles des auto-Ac sont mis en évidence et soupçonnés d'un rôle pathogène.

"Ici l'auto-Ac n'est, ni un témoin, ni un suspect mais le coupable" écrit JOUVENCEAUX.

C'est bien la fixation de l'auto-Ac sur les hématies et la formation spécifique d'un complexe sur la membrane qui sont à l'origine de l'hémolyse et donc de l'anémie. Simplement, le mécanisme et le lieu de l'hémolyse diffèrent en fonction de la nature de l'auto-Ac. Ceci a pour conséquence, un certain polymorphisme du tableau clinique.

- Si l'auto-Ac est capable de fixer fortement le C (IgM, IgG 1, 2, 3) il y a alors lyse intravasculaire, conséquence directe de la fixation en chaîne des 9 fractions du C sur le globule rouge (G.R.) aboutissant à la rupture de sa membrane.

Ce mécanisme semble relativement exceptionnel, limité à quelques types d'auto-Ac très fortement hémolysants in vitro.

- Si l'auto-Ac ne fixe pas le C, ou si la fixation du C s'arrête au C₃, les GR ainsi revêtus (de IgG 1, 3, de C₃) deviennent adhérents aux macrophages possédant des récepteurs correspondants.

Ceci active la membrane de ces cellules, ce qui déclenche la phagocytose, qui peut être totale ou partielle.

Une phagocytose partielle conduit à la formation de sphérocytes : une partie de la membrane érythrocytaire ayant disparu au contact du phagocyte, le GR, dont la surface est plus diminuée que le volume, prend la forme d'une sphère. Celle-ci, rigide ne peut plus se déformer pour franchir les étroits capillaires de la rate, où elle est phagocytée dans un deuxième temps.

La lyse est de toute façon intratissulaire, dans le système réticulohistio-cytaire.

Elle peut être splénique, pour les sphérocytes ou les G.R. dont le revêtement

en IgG est peu important, ou hépatique pour les hématies recouvertes de C₃ ou d'une forte densité d'IgG.

3 - CLASSIFICATIONS

- Classification étiologique

basée sur la distinction (AHAI idiopathiques
(
(AHAI associées à une maladie sous-jacente.

- Classifications immunologiques

. Classification classique, fondée sur l'activité thermique optimale de l'Ac in vitro.

Elle distingue les AHAI à Ac chauds (fixation érythrocytaire optimale à 37° C) et à AC froids (amplitude thermique de fixation entre 0° et 25° C).

. Nouvelle classification, fondée sur la nature de l'agent sensibilisant les hématies.

Chez l'homme, cette classification a supplanté la précédente. Elle commence à apparaître chez le chien.

Slappendel distingue dans son étude (42), les types suivants d'AHAI :

types	IgM + C
	IgA
	IgG + C
	IgG
	C

4 - MANIFESTATIONS CLINIQUES

- A travers la littérature, il ne semble pas que l'on puisse réellement conclure à une incidence plus grande de ces AHAI à un âge donné ou dans une race particulière (54). Il est dommage que Slappendel (42) dont l'étude porte sur un plus grand nombre de cas ne tire aucune conclusion à ce sujet.

Par contre Schalm (40) note une nette prédominance chez les femelles.

- Le tableau clinique de ces maladies est tout d'abord celui d'une anémie, de nature hémolytique :

. l'anémie se manifeste par de l'abattement, de l'anorexie, un essouffle-

ment, des muqueuses décolorées. A l'auscultation, on note une tachycardie avec éventuellement un souffle holosystolique.

- l'hémolyse se traduit par des urines et des selles foncées et, de façon inconstante, par un ictère.

A la palpation, on note fréquemment une splénomégalie, une hypertrophie souvent modérée des noeuds lymphatiques explorables. On peut percevoir parfois une hépatomégalie. On peut noter quelquefois une hyperthermie.

- Dans le cas très particulier des AHAI à agglutinines froides, on note une cyanose et des lésions de nécrose apparaissant sur les parties du corps les plus exposées à un refroidissement (extrémités des membres, oreilles, nez...).

- A de ces symptômes viennent s'ajouter ceux d'éventuelles maladies sous-jacentes. Ils dépendent de la maladie en cause (LED, thrombocytopénie auto-immune...) et nous ne les développerons pas ici.

De ceci, il faut retenir que le tableau clinique des AHAI est assez polymorphe. Il dépend de l'intensité de l'anémie et de l'hémolyse, et du lieu de l'hémolyse pour les AHAI idiopathiques. De plus, lorsqu'il existe une maladie sous-jacente, ses symptômes peuvent plus ou moins masquer ceux de l'AHAI.

- L'évolution peut se dérouler sous forme aiguë, revêtant alors un caractère de grande gravité, soit sur le mode subaigu ou parfois même chronique.

5 - DONNEES DU LABORATOIRE

Le laboratoire nous sert à confirmer l'anémie, à la caractériser, à démontrer sa nature hémolytique, et à prouver son étiologie auto-immune.

a/ Signes hématologiques :

- On note quelquefois une autoagglutination spontanée des G.R. dans le tube à prélèvement (ceci surtout dans les AHAI à agglutinines froides).

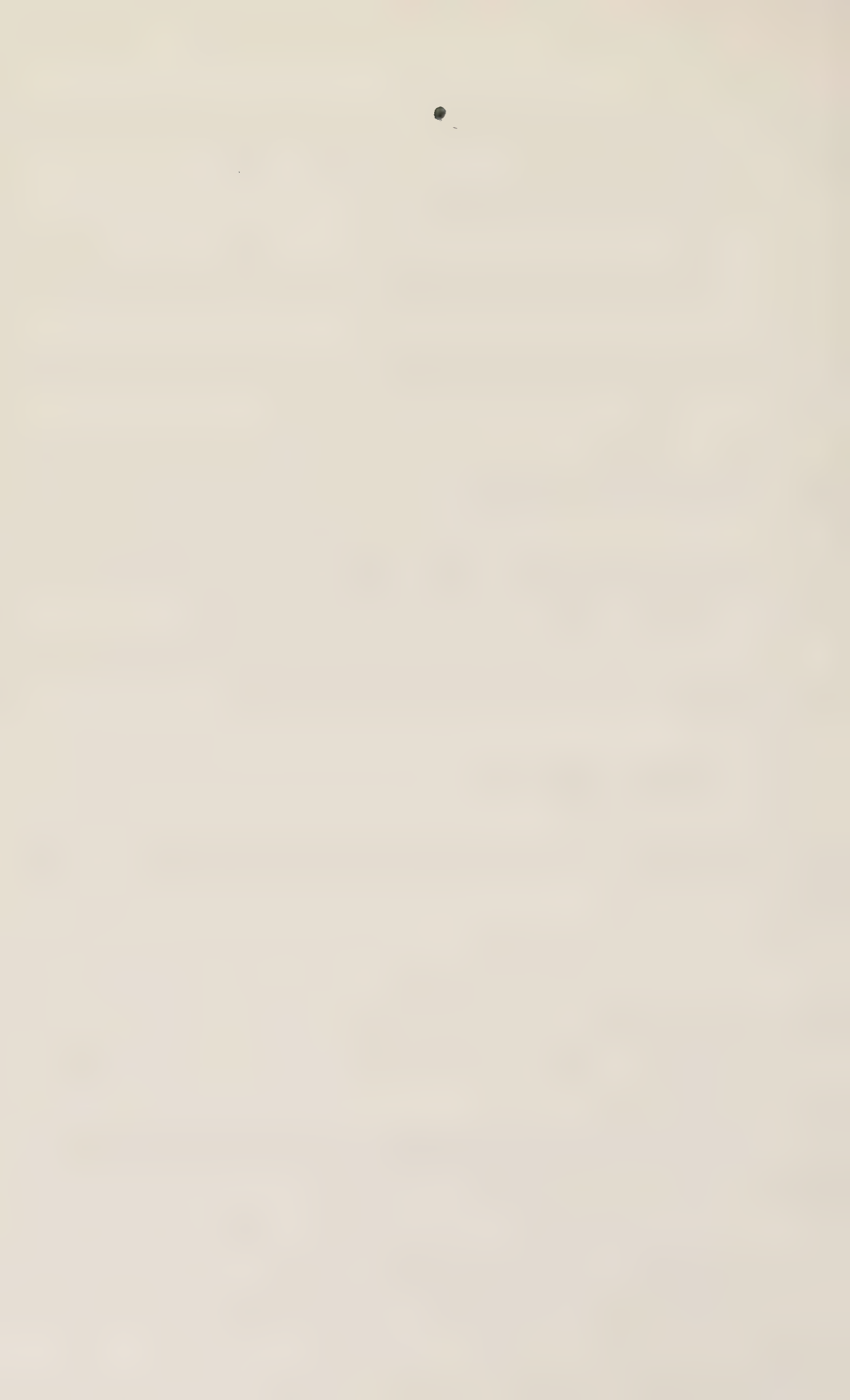
- La numération rouge, le taux d'hémoglobine par litres, et l'hémoglobine sont abaissés de façon variable.

- Le calcul du volume globulaire moyen : VGM de l'hémoglobine corpusculaire moyenne : HCM (facultatif) et de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine : CCMH permettent de caractériser l'anémie :

Elle est normochrome, normocytaire ou légèrement macrocytaire.

- La numération blanche met en évidence une leucocytose d'intensité variable.

- La lecture d'un frottis sanguin, révèle une anisocytose, une polychromato-



philie, la présence (inconstante) de sphérocytes et de quelques érythroblastes. La réticulocytose est souvent élevée.

- Le myélogramme n'a pas été réalisé de façon courante dans le diagnostic des AHAI du chien. Logiquement, il doit être hyperérythroblastique.

b/ Signes biochimiques

Ils traduisent une augmentation du catabolisme de l'hémoglobine.

- Si l'hémolyse est intravasculaire, l'hémoglobinémie est augmentée.

- Dans la plupart des cas, l'hémolyse se traduit dans le sang par une augmentation de la bilirubine non conjuguée et de la bilirubine conjuguée quelquefois.

Dans les urines, on trouve de l'urobiline en quantité augmentée, de l'hémosidérine, de l'hémoglobine quelquefois et plus rarement une protéinurie.

Dans les selles, le stercobilinogène est augmenté.

c/ Tests d'hémolyse

La fragilité osmotique des GR est généralement augmentée.

d/ Tests isotopiques

Les tests isotopiques destinés à mettre en évidence une durée de vie des hématies raccourcie ne sont pas utilisés chez le chien. Ils ne sont d'ailleurs utilisés chez l'homme que de façon complémentaire, lorsque l'A.H. n'est pas suffisamment démontrée par les examens précédents.

e/ Tests immunologiques

1 - test de Coombs (T.C.)

Le test de Coombs direct (T.C.D.) définit à lui seul la maladie.

Il démontre en effet la sensibilisation des hématies soit par une Ig (IgG, M, A) soit par du C.

Rappelons brièvement le principe de ce test, découvert par Coombs et coll. en 1945 (9) et utilisé chez le chien dès 1954 par Miller (28).

Ce test a pour objet de créer une "agglutination artificielle" c'est-à-dire de transformer en agglutination, facile à observer, un revêtement des G.R. par des Ac "incomplets".

Il faut rappeler que l'agglutination des G.R. est due à la création entre

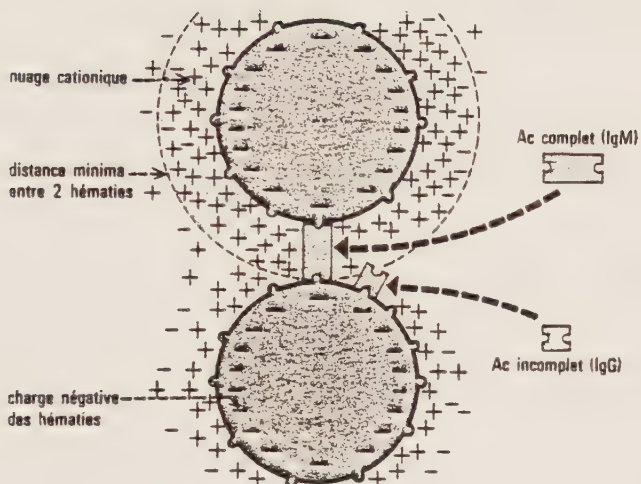


Schéma n° 1 - Effet du potentiel Z sur l'agglutination.
(d'après A. JOUVENCEAUX)

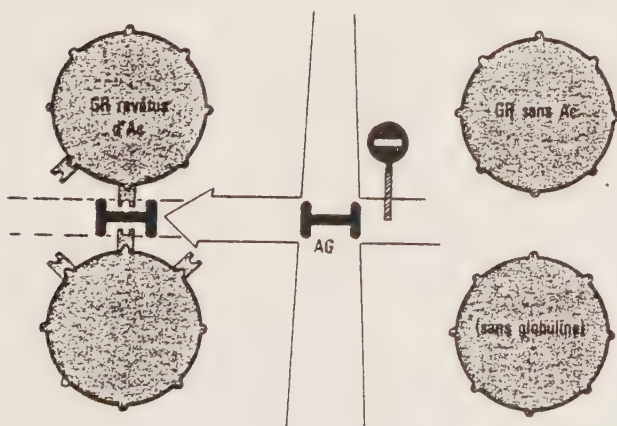


Schéma n° 2 - Principe du test de Coombs - Agglutination par l'AG.
(d'après A. JOUVENCEAUX)

eux de ponts immunologiques par des Ig qui se fixent par leurs sites Ac sur au moins deux G.R. (portant leurs Ag correspondants).

Or, en eau saline, il existe une charge électrique (potentiel Z) telle entre les hématies qu'elles se repoussent et que la distance minimale entre elles est de 250 Å. Or, toutes les Ig ne possèdent pas des sites Ac suffisamment éloignés pour pouvoir franchir cette distance :

- les Ac capables d'agglutiner en milieu salin sont dits Ac complets (IgM surtout).
- les autres sont dits Ac incomplets, ils sont seulement revêtants (IgG surtout) - (voir schéma n° 1).

Le principe du T.C. est de faire créer des ponts entre Ac incomplets revêtants (et donc d'agglutiner les G.R.) par des "Ac anti-Ac" (schéma n° 2).

Le sérum antiglobuline s'obtient en injectant des Ac incomplets (comme Ag) à un animal d'une autre espèce qui s'immunise contre eux. Ce sérum n'agglutine les hématies que si il reconnaît son Ag à leur surface, c'est-à-dire les Ac incomplets.

Dans le cas particulier du revêtement des G.R. par des fractions du C (qui ne sont pas bien sûr des immunoglobulines) on fabrique un sérum anti-C selon le même principe que le sérum antiglobuline.

2 - évolution

Si le T.C. reconnaît la nature de la sensibilisation, c'est l'élution qui permet de définir la spécificité de l'auto-Ac.

Le principe en est de dissocier les auto-Ac des hématies par différentes méthodes physiques ou chimiques (chaleur, éther, abaissement du pH...) puis de tenter de les faire fixer à nouveau sur des G.R. porteurs d'Ag connus.

Cette technique a été très peu utilisée chez le chien (28) (41) (25) ; en effet, on ne connaît pas suffisamment les Ag érythrocytaires du chien pour la mettre à profit.

On ne dispose pas, comme chez l'homme, de panels d'hématies porteuses d'Ag connus.

3 - étude des sérums

Elle complète les tests globulaires.

On peut rechercher particulièrement la présence d'agglutinines froides.

f/ Examen histopathologique

Il a été réalisé sur les reins (25). Il a révélé, chez quelques sujets, une fibrose glomérulaire et des dépôts d'une substance hyaline dans les glomérules.

6 - DIAGNOSTIC

Il est basé sur la mise en évidence d'une anémie hémolytique, régénérative, avec obligatoirement T.C. positif (sauf dans le cas de AHAI à agglutinines froides).

Diagnostic différentiel

- Il est à faire d'avec les A.H. toxiques, toxiniques et surtout parasitaires plus couramment rencontrées chez le chien (24) (14).

C'est la positivité du T.C. qui permet de faire la différence. C'est aussi plus simplement pour la piroplasmose, la mise en évidence du parasite intraglobulaire sur un simple frottis sanguin.

- On distinguera aussi les différents types d'AHAI, idiopathiques ou associés à une maladie sous-jacente. Ceci est basé sur la mise en évidence des symptômes propres à cette maladie sous-jacente, et sur des examens de laboratoire éventuellement par simple dosage des A.C. antinucléaires (A.N.) pour le diagnostic du LED (30) (15).

7 - PRONOSTIC

Il est incertain.

- Il semble, d'après Slappendel (42) que l'évolution du T.C. ait une certaine valeur pronostique. Tant qu'il reste positif, même pendant les rémissions cliniques, le risque de rechute est grand. Lorsqu'il se négative, les rechutes semblent plus rares.

- Chez l'homme, pour les AHAI à IgG, il ne semble pas que l'on puisse accorder de valeur pronostique au degré de positivité du test de Coombs : en effet, l'intensité de la réaction dépend de la classe d'IgG.

- Qu'en est-il chez le chien où deux classes d'IgG seulement sont connues : Ig G₁ et G₂ (33).

8 - PRINCIPES DE LA THERAPEUTIQUE

. Lutter contre les conséquences de l'anémie.

La transfusion sanguine : On y a recours uniquement lorsque l'anémie est telle qu'elle compromet la vie de l'animal (par défaut de pigments respiratoires) le seuil critique varie selon les auteurs (en moyenne lorsque l'hématocrite descend en-dessous de 15-20 %).

En effet, les G.R. injectés sont rapidement détruits car la cause de l'hémolyse persiste. Pour éviter cela, il faudrait injecter, comme ceci est réalisé chez l'homme, des hématies dépourvues des Ag contre lesquels sont dirigés les auto-Ac. Or nous avons vu que les spécificités antigéniques des auto-Ac ne sont pas connues chez le chien.

D'autre part, l'injection de G.R. retarde ou diminue l'érythropoïèse.

. Lutter contre les causes de l'anémie

Elle est basée sur la connaissance de la pathogénie de la maladie.

. La splénectomie

Elle vise à freiner l'hémolyse indirecte (partrappage et phagocytose dans la rate des hématies recouvertes d'auto-Ac).

En effet, ces G.R., même déformés par phagocytose partielle (sphérocytes) sont encore fonctionnels.

Les résultats sont variables (40).

Ceci n'est pas surprenant, quand on sait que l'hémolyse n'est pas forcément splénique.

. L'héparine

Elle a été utilisée pour son action anticomplémentaire (on a vu que le C intervient dans l'hémolyse par différents mécanismes), en cas d'échec de la corticothérapie chez l'homme et chez le chien (40).

Ces résultats semblaient peu convaincants.

. Les corticostéroïdes

Ils restent la thérapeutique de choix des AHAI, malgré des résultats inégaux. Ils sont utilisés pour leur activité immunosuppressive. En effet, ils dépriment la production d'auto-Ac.

Leurs mécanismes d'action semblent très complexes : Ils entraînent des lésions biochimiques au niveau des lymphocytes, perturbant la circulation lymphocytaire, activent les fonctions des macrophages, agissent sur la différenciation des précurseurs en cellules productrices d'Ac...

Mais il ne faut pas oublier qu'ils ont aussi, plus simplement, des effets antiinflammatoires (diminution de la perméabilité vasculaire et de l'exsudation...) qui n'impliquent par nécessairement un mécanisme immunologique (21).

On utilise classiquement chez le chien la prednisolone (Cortancyl ND 1mg/kg).

On adapte les doses et la durée du traitement à l'évolution de la maladie. On surveille particulièrement le T.C.

PREPARATION D'UN SERUM ANTIGLOBULINE

DE CHIEN ADAPTE AU TEST DE COOMBS

APPLICATIONS POSSIBLES

Nous avons choisi de préparer un antisérum anti IgG pour différentes raisons : relative facilité de préparation (par rapport aux autres antisérums spécifiques) car nous débutions en immunohématologie, possibilité d'un système de contrôle de notre réactif, large gamme d'applications possibles, valeur comparative de nos résultats en ce qui concerne les AHAI avec des travaux ayant utilisé ce type de réactif.

A - PREPARATION DE L'ANTIGLOBULINE DU CHIEN (A.G.C.)

La mise au point de cet AGC s'est effectuée en plusieurs étapes. La préparation sur animal a été réalisée à l'Institut Français de la fièvre Aphteuse (IFFA) par le Dr G. CHAPPUIS. Nous avons réalisé nous-même les étapes suivantes au Centre de transfusion sanguine avec l'aide du Pr A. JOUVENCEAUX.

1 - LA PREPARATION SUR ANIMAL

Matériel utilisé :

- une chèvre : c'est plus classiquement le lapin qui est utilisé pour la production d'AG, mais la chèvre offre l'avantage appréciable d'en produire des quantités beaucoup plus importantes.

- l'Antigène : ce sont des IgG de chien purifiées par chromatographie sur DEAE-cellulose.

- Adjuvant complet de FREUND.

Protocole :

On immunise la chèvre par 5 injections successives d'Ag, au rythme de une par semaine par des voies d'injection différentes.

Une semaine après la dernière injection, on saigne l'animal et on isole le sérum par centrifugation.

Nous obtenons ainsi un AGC brut dont il faut tester l'activité antiglobuline G.

Il faut pour cela, disposer d'un système connu. Ce système doit nous permettre de vérifier que l'AGC reconnaît et agglutine les G.R. revêtus d'IgG et eux seuls.

2 - CHOIX JUSTIFIÉ D'UN SYSTÈME DE RÉFÉRENCE

Ce système doit se rapprocher le plus possible du modèle suivant :

- G.R. possédant ou non un Ag de surface connu.

- Sérum contenant ou non des Ac correspondant à cet Ag. Ces Ac doivent être revêtants mais non agglutinants en milieu salin (sinon le T.C. serait irréalisable). Les Ac doivent donc être des IgG : Ig de petite taille, incapables en règle générale d'agglutiner des G.R. in vitro en milieu salin à froid.

Nous avons choisi comme système de référence un système naturel, un groupe érythrocytaire du chien : le groupe A.

C'est le mieux connu des groupes sanguins du chien, ceci, nous l'avons dit, pour des raisons cliniques : c'est en effet celui qui provoque la majorité des accidents transfusionnels chez cet animal.

On peut le comparer (de façon schématique) au groupe Rhésus de l'homme.

On définit ce groupe de la façon suivante :

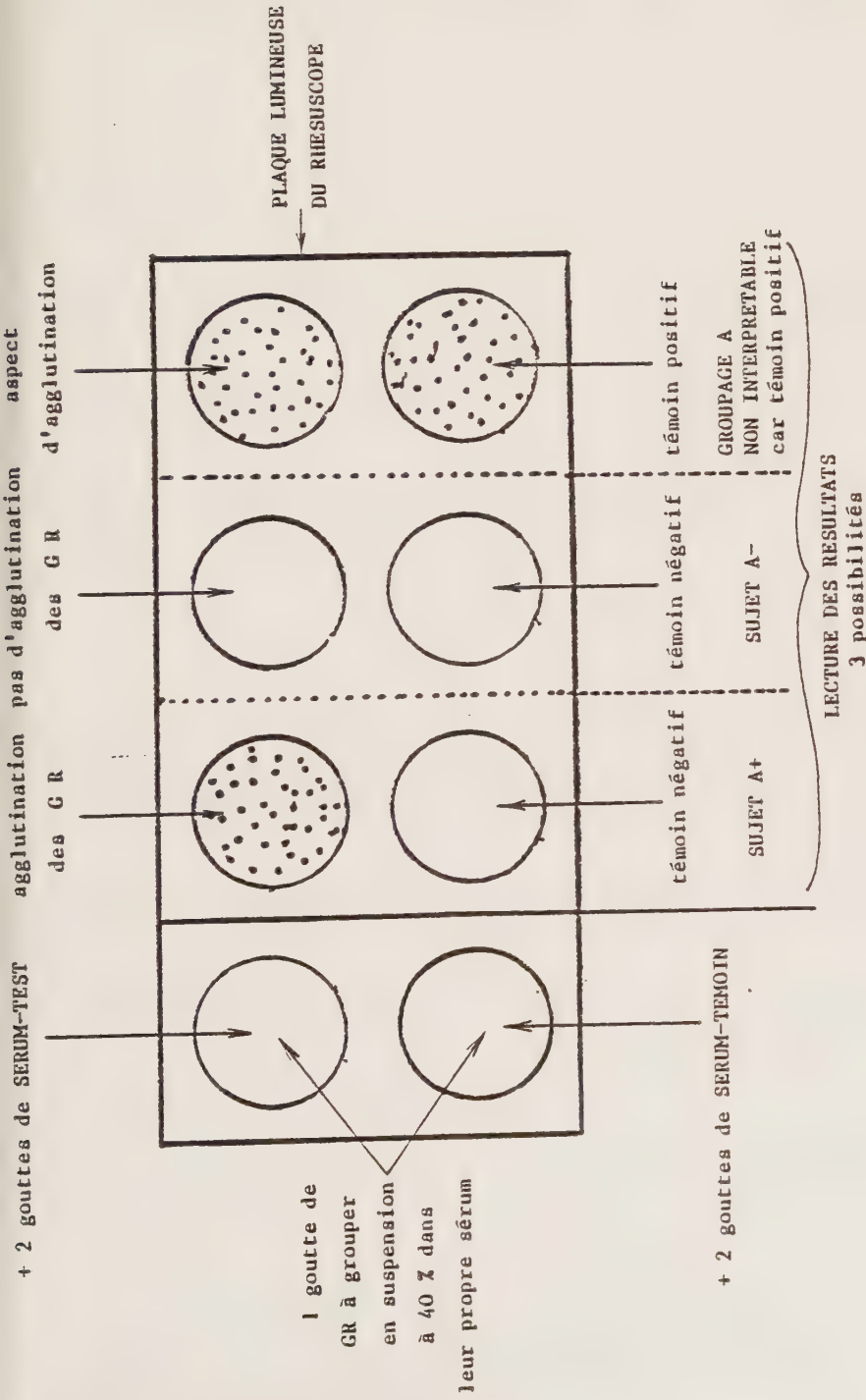
- un AgA porté ou non par les G.R. de chien, les sujets dont les G.R. portent des Ag A sont dits A⁺, les autres sont dits A⁻.

D'après YOUNG (46), 63 % des sujets sont A⁺ et 37 % A⁻. Ces chiffres ont été confirmés par CHAPPUIS (7).

- les Ac correspondants = Ac anti A n'existent pas à l'état naturel dans le sérum des sujets A⁻ (sauf dans quelques cas exceptionnels). Ils sont produits par ces animaux après un contact avec l'AgA (transfusion, gestation) : ce sont des Ac immuns comme les Anti-Rh de l'homme.

En présence de complément, ils sont hémolytants in vivo et in vitro.

Nous disposons d'un sérum anti A de référence, préparé à l'origine par DUDOCK de WIT et actuellement préparé par G. CHAPPUIS par transfusions répétées de G.R. A⁺ à un chien A⁻.



Les Ac anti A ainsi obtenus sont essentiellement des IgG.

Ce sérum anti A permet le groupage A des chiens. Il est utilisé en clinique pour éviter les transfusions incompatibles (sang A⁺ transfusé à des sujets A⁻), induisant la formation d'Ac anti A rendant dangereux des transfusions ultérieures.

Différentes techniques ont été utilisées pour le groupage A.

Celle la plus utilisée en France actuellement est une technique en tube, basée sur la lecture de l'agglutination et de l'hémolyse après centrifugation (technique de G. CHAPPUIS).

Nous avons mis au point une technique de groupage A : technique d'agglutination en milieu albumineux sur lame chaude qui se révèle fiable (concordance parfaite des résultats avec ceux obtenus par la technique précédemment citée) et qui offre les avantages d'une plus grande facilité et rapidité d'exécution.

Ces avantages sont appréciables lorsque l'on doit pratiquer des groupages en série, aussi c'est cette technique que nous utiliserons ici.

Cette technique est très comparable à celle du groupage Rhésus. Ceci s'explique sur les Ac anti Rh et anti A sont de nature comparable : ce sont des IgG (non agglutinants en milieu salin, à froid).

Le matériel et les réactifs utilisés sont les suivants :

- un rhéuscope ou plaque chaude (37°).
- échantillon de sang du sujet à grouper, prélevé sur héparine.

- sérum-test obtenu de la façon suivante : 2 gouttes de sérum anti A décomplémenté pour une goutte d'albumine bovine à 30 %, le sérum est décomplémenté par chauffage une demi-heure au bain-marie à 56° C ; ceci permet de supprimer les réactions d'hémolyse. Notre lecture est donc basée sur l'agglutination, exclusivement.

- sérum-témoin : 2 gouttes de sérum neutre, sans anti A (provenant d'un pool de sérum de sujets A⁺ ou A⁻ sans anti A, pour une goutte d'albumine bovine à 30 %.

La technique est résumée dans le schéma n° 3, ainsi que les réactions que l'on peut observer et leur interprétation.

En résumé, nous disposons donc des réactifs suivants : GR A⁺, GR A⁻, sérum anti A (IgG), sérum neutre, (non anti A⁻).

Ces différents éléments vont nous permettre de tester la spécificité et la sensibilité de notre AGC.

3 - PREMIER TITRAGE DE L'AGC

L'objectif est de tester l'AGC dans le système précédemment défini de façon quantitative, en faisant varier sa concentration ainsi que la densité du revêtement d'Ac sur les G.R. utilisés.

Réactifs

- G.R. A⁺ revêtus d'Ac anti A en concentrations décroissantes.
- AGC à des concentrations décroissantes.

Technique

En deux temps :

- 1/ G.R. A⁺ connus, lavés 3 fois, mis en présence du sérum anti A à des concentrations décroissantes.

Ce contact est réalisé en tube à la température du laboratoire (22°) pendant une demi-heure.

Puis les G.R. ainsi revêtus mais non agglutinés, sont lavés à nouveau 3 fois pour éliminer l'excès d'Ac non fixés.

- 2/ Les G.R. A⁺ ainsi traités sont mis en présence de l'AGC ; le contact est réalisé sur plaque d'opaline très propre. On mélange 1 goutte de G.R., en suspension saline à 40 % et 1 goutte d'AGC avec le fond d'un tube à hémolyse.

Lecture : On lit la réaction dans les deux minutes qui suivent.

On note l'intensité de l'agglutination en croix.

On tient compte de sa rapidité d'apparition.

Témoins négatifs : . GR A⁺ revêtus d'Ac anti A⁺ eau saline
 . GR A⁻ traités dans les mêmes conditions + AGC
 . GR A⁺ non revêtus + AGC.

Résultats

Ils sont exprimés dans le tableau I, page suivante.

Témoins : seul le témoin GR revêtus + eau saline est parfaitement négatif ; les deux autres présentent une faible positivité (+) au bout de deux minutes.

Interprétation

Nous remarquons tout d'abord sur ce tableau qu'il n'existe pas de phénomène de zone pour cet AGC.

Nous disposons d'un AGC capable de détecter un revêtement d'IgG sur des GR (puisque l'on peut noter des réactions d'intensité décroissante lorsque la densité du revêtement d'Ac diminue). Mais cet AGC manque de spécificité.

AGC GR+S	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	eau saline
1	+++	++	+	(+)	-	-	-
1/2	++	+	(+)	-	-	-	
1/4	++	+	-	-	-	-	
1/8	++	+	-	-			
1/16	++	+	-	-			
1/32	+	+	-	-			
1/64	+	+	-	-			
1/128	+	+	-	-			
1/256	+	+	-	-			
1/512	+	(+)	-				
1/1000	(+)	(+)	-				
1/2000	(+)						
GR A+ non revêtus	(+)						

- Tableau I -

En effet :

- les témoins qui devraient être parfaitement négatifs sont faiblement positifs.
- la partie hâchurée du tableau est dépourvue de signification (malgré des concentrations décroissantes du revêtement d'Ac jusqu'à des taux très faibles et même nuls, une positivité faible mais constante persiste (ceci pour les concentrations 1 et 1/2 de l'AGC).

On peut déduire de ceci que l'AGC n'est pas seulement un antiglobuline, mais contient d'autres AC anti-érythrocytaires capables d'agglutiner des GR normaux.

Dans ces conditions, cet AGC ne peut être utilisé pour le Coombs. Pour pouvoir le faire, il est nécessaire :

- soit de l'utiliser à une dilution à laquelle il soit spécifique (ici : la dilution 1/4) mais alors il perd énormément de sa sensibilité.
- soit de l'absorber.

Nous choisissons cette deuxième solution.

4 - ABSORPTION DE L'AGC

Elle a pour but l'élimination de composantes non spécifiques (non antiglobuline) de l'AGC en les absorbant sur des GR normaux absolument dépourvus de revêtement d'Ac.

Matériel - Réactifs

- POOL de GRA⁺ et A⁻ parfaitement lavés (4 fois) de façon stérile avant d'être mélangés, ceci pour les débarrasser parfaitement de leur sérum. Ces GR proviennent de sujets en bonne santé.

- AGC . décomplémenté
- . additionné d'hydrazide à 1 %. (rôle antiseptique).

Technique

Mise en contact d'un volume de GR et d'un volume de l'AGC (ceci de façon stérile) pendant une nuit, à + 4° C.

Puis centrifugation et récolte de surnageant. Nous obtenons ainsi un nouveau AGC absorbé (AGC a) que nous allons tester in vitro à nouveau.

5 - DEUXIEME TITRAGE DE L'AGC APRES ABSORPTION

Il est réalisé suivant le même principe que le premier. La même technique, les mêmes types de témoins sont utilisés. Les résultats sont rassemblés dans le

AGC R+S	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128 eau saline
1	+++	+++	++	++	+	(+)	-	-
1/2	+++	+++	++	+	(+)	-	-	
1/4	+++	+++	++	+	(+)	-	-	
1/8	+++	++	+	+	(+)	-		
1/16	++	++	+	(+)	-	-		
1/32	++	+	-	-	-			
1/64	+	-	-	-	-			
/128	(+)	-	-	-				
/256	(+)	-	-					
/512	(+)	-						
1000	((+))	-						
non vétus	((+))							

- Tableau II -

tableau II.

Interprétation

- La spécificité de l'AGC, semble beaucoup améliorée et en particulier le tableau des résultats a une allure beaucoup plus significative.

Pourtant, à la concentration 1, l'AGC A semble n'être pas totalement spécifique.

On note en effet que de faibles positivités apparaissent au bout de plusieurs minutes pour les faibles concentrations de sérum ainsi que pour les GR A⁺ non revêtus et les GR A⁻.

Ces réactions bien que très faibles et tardives peuvent fausser l'interprétation du Coombs.

Or ces réactions douteuses disparaissent totalement lorsque l'on utilise la concentration 1/2 de l'AGC A. C'est donc cette concentration que nous utiliserons désormais.

- La sensibilité de l'AGC n'est pas diminuée, comme cela arrive fréquemment après absorption.

Elle semble même augmentée lorsque l'on compare les deux tableaux ! Pour une même concentration 1 du sérum anti A :

On note : . une positivité au 1/8 pour l'AGC non absorbé
 . une positivité au 1/16 pour l'AGC absorbé.

L'explication de ceci se trouve dans la véritable concentration du sérum anti A utilisé : En effet nous avons utilisé le même sérum anti A dans les deux cas mais sous deux présentations différentes influant sur la concentration.

- titrage avant absorption. Sérum anti A LYOPHILISE, ce qui équivaut à une dilution 1/2.

- titrage après absorption : Sérum anti A brut.

Donc, pour comparer de façon valable ces deux tableaux, il ne faut pas tenir compte de la première ligne horizontale du tableau II (Sérum utilisé à la concentration 1).

Discussion

Utilisé - à la concentration 1/2, l'AGC absorbé nous semble présenter des qualités correctes de spécificité, détection d'un revêtement d'IgG sur les GR) et de sensibilité.

La sensibilité nous l'avons vue peut être quantifiée d'une certaine façon par l'utilisation d'un tableau du type de ceux utilisés précédemment.

Par ce système de tableaux, nous pouvons donc quantifier un des paramètres

(revêtement d'Ac, AGC...).

Mais un tel tirage n'a de valeur quantitative réelle que s'il est utilisé de façon comparative (par exemple tirage des taux d'Ac anti A dans une série d'échantillons de sérum). Ces tableaux étant tous réalisés dans les mêmes conditions, avec les mêmes réactifs...

Remarque

Nous avons effectué les mêmes opérations de titrage dans les mêmes conditions, avant et après absorption pour deux autres sérums AGC, anti IgG, fabriqués sur lapins et commercialisés respectivement par l'Institut PASTEUR et le Laboratoire BEHRING pour d'autres utilisations que le Coombs. Nous avons obtenu le même type des résultats que pour notre AGC, c'est-à-dire :

- avant absorption : manque de spécificité surtout en ce qui concerne l'AGC de PASTEUR.
- après dilution : (1/2 pour BEHRING et 1/4 pour PASTEUR) et absorption ; leur spécificité était très comparable à celle de notre AGC.

Nous avons abandonné l'utilisation de ces AGC. En effet, ils ne présentaient aucun avantage supplémentaire par rapport au nôtre.

B - APPLICATIONS POSSIBLES

Nous disposons donc d'un sérum antiglobuline G de chien, adapté au T.C..

- En immunohématologie humaine, ce test est utilisé différemment, suivant ce que l'on cherche à mettre en évidence.

. le test de Coombs (TCD) permet de détecter un revêtement d'Ac ou de C sur des hématies. Il s'effectue en un temps.

Exemple : Recherche d'Ac anti Rh éventuellement fixées sur les GR d'un enfant né de mère Rh⁻.

. le test de C indirect (TCI) permet, en mettant en présence dans un premier temps des Ag et des Ac, l'un des deux facteurs étant connu, de déterminer la présence éventuelle de l'autre. En effet, le complexe spécifique Ag-Ac, s'il s'est formé, est révélé dans un 2ème temps par l'antiglobuline.

Deux exemples :

- Recherche d'Ac anti Rh dans le sérum d'une femme Rh⁻, en mettant en contact des GR connus et le sérum inconnu.
- Recherche d'un Ag sur des GR en mettant en contact des GR inconnus avec un sérum test contenant des Ac connus : groupages sanguins.

- Quant aux applications en immunohématologie canine, nous avons montré, dans un travail antérieur (32) qu'elles sont également nombreuses.

Celle qui nous semble avoir la plus grande importance pratique chez le chien, c'est l'utilisation pour le diagnostic des AHAI. C'est celle qui va bien sûr nous intéresser ici.

Pour mettre en évidence un revêtement d'auto Ac sur les hématies, nous utilisons le TCD.

En résumé :

Nous avons préparé un sérum antiglobuline de chien adapté au TC (agglutinant).

C'est un sérum spécifiquement anti IgG. Il ne nous permettra donc de mettre en évidence sur les GR que des auto-Ac de type IgG. Il est important de le préciser, car nous avons vu que les auto-Ac sont de différentes natures.

APPLICATION DE NOTRE AGC
AU DIAGNOSTIC DES AHAI DU CHIEN
OBSERVATIONS CLINIQUES

Ce travail a été réalisé pendant un an et demi à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Tous les animaux dont il est question ici, ont, à l'exception d'une portée de chiots d'expérience, été présentés à la consultation de médecine.

Les examens biologiques et particulièrement le TC ont été réalisés au laboratoire d'hématologie, à l'exception du titrage des Ac AN réalisé au laboratoire du Pr J.C. MONIER à la faculté de Médecine de Lyon (laboratoire d'Hygiène).

A - TECHNIQUES UTILISEES

Nous avons utilisé la technique du TC sur lame (il existe une technique en tube).

1 - TEST DE COOMBS DIRECT (TCD)

Matériel

- 1 plaque d'opaline très propre
- AGC
- échantillon de sang du suspect prélevé sur tube hépariné.
- échantillon de sang d'un sujet témoin prélevé sur tube hépariné.

Technique

Les GR sont lavés trois fois puis remis en suspension à 40 % en eau saline.

On dispose sur cette plaque d'opaline, une goutte de cette suspension et une goutte de l'antisérum.

On mélange avec le fond d'un tube à hémolyse.

La lecture se fait dans les deux minutes qui suivent. On note l'intensité de l'agglutination en croix.

On tient compte de sa rapidité d'apparition.

Témoins négatifs

- une goutte des GR du suspect en suspension à 40 % en eau saline + 1 goutte d'eau saline.

Ceci pour vérifier que les GR du malade ne s'agglutinent pas spontanément en eau saline.

- une goutte des GR d'un chien témoin, en suspension à 40 % en eau saline + 1 goutte de l'AGC.

Ceci pour contrôler la bonne conservation de l'antisérum.

Il est important de réaliser ces deux témoins surtout lorsque la réaction est positive.

2 - TEST DE COOMBS INDIRECT (TCI)

Matériel : - 1 plaque d'opaline très propre.

- AGC

- échantillon de sang du suspect prélevé sur tube sec.

Le sang du suspect est centrifugé et l'on isole son sérum.

Technique :

Le test s'effectue en deux temps.

a/ GR provenant d'un pool de GR de chiens normaux lavés trois fois, en suspension à 40 % en eau saline + sérum du suspect en quantités égales.

Le contact est réalisé en tube à 22° et 37°, pendant une demi-heure.

b/ Les GR ainsi traités sont lavés trois fois puis mis en présence de l'antisérum.

Même technique que le TCD.

Les témoins négatifs sont inutiles ici.

B - CHOIX DES ANIMAUX - NOS RESULTATS

. Nous avons effectué des TCD sur les hématies de 105 chiens.

Les critères qui nous ont amené à sélectionner ces animaux sont les suivants :

- Nous avons bien sûr recherché les sujets présentant des symptômes évocateurs d'une AH ou d'une éventuelle maladie associée (LED...)

- Nous avons aussi effectué un certain nombre de TC, au hasard, sur des échantillons de sang de sujets apparemment sains, ceci pour deux raisons très différentes :

. effectuer le dépistage éventuel d'animaux à TCD positif avant toute manifestation clinique d'une AH comme c'est décrit chez l'homme.

. vérifier régulièrement la bonne conservation de notre antisérum.

. Nous avons obtenu les résultats suivants :

- Parmi les 37 sujets apparemment sains testés, aucun n'a présenté de TCD positif.

- 54 chiens présentant des signes cliniques d'AH ont été testés :

. chez 50 d'entre eux, une étiologie parasitaire a été démontrée par la présence de piroplasmes sur le frottis. On sait en effet par les piroplasmes sont obligatoirement parasites et sont donc toujours pathogènes.

2 parmi ces sujets ont montré un TCD faiblement positif (cas n° 2 - 3).

. 4 ont présenté une AH pour laquelle l'étiologie parasitaire a pu être complètement écartée (non seulement absence de piroplasmes mais aussi inefficacité des traitements piroplasmicides).

Ces AH ne semblaient pas non plus d'étiologie toxique ou toxinique.

Chez l'un de ces animaux, on a mis en évidence un TCD très positif (cas n° 1).

- Parmi 10 chiens lupiques, 3 ont montré des TCD positifs (cas n° 4 -

5 - 6).

Aucune réaction positive par contre chez 4 sujets atteints de leucose.

En résumé donc, parmi 68 animaux suspects, 6 réactions positives ont été observées, à des degrés d'intensité différents : une réaction très positive (cas n° 1), 3 réactions positives (cas n° 4 - 5 - 6), et 2 réactions faiblement positives (cas n° 2 - 3).

C - OBSERVATIONS CLINIQUES ET RESULTATS BIOLOGIQUES

Nous allons rapporter maintenant les données cliniques et biologiques recueillies dans les 6 cas. Elles sont, nous allons le voir, de qualité très inégale. En effet, un seul cas pour l'instant a pu être étudié de façon complète (cas n° 1). Trois autres (les chiens lupiques) sont actuellement en cours d'étude, et nous avons perdu les traces de deux autres, les propriétaires n'en ayant plus donné de nouvelles.

. Cas n° 1 : "Prince", Beauceron mâle, 17 mois, appartenant à Mme G. Lozanne (69)

Le 19.2.79 (J = 0) ce chien est présenté à la consultation en raison d'une altération très brutale de son état général, avec prostration et anorexie totale depuis 2 jours.

A ce premier examen clinique, le chien apparaît très abattu, et s'essouffle au moindre effort. Par ailleurs, on note une décoloration intense des muqueuses et une hyperthermie à 41° C.

La palpation révèle une splénomégalie et l'auscultation une tachycardie.

Les urines sont de coloration brun sombre et leur analyse montre la présence de protéines, de bilirubine, d'urobiline et de sang (ou plutôt d'hémoglobine, après culot de centrifugation).

Ce tableau clinique très évocateur nous amène à réaliser un frottis sanguin pour la recherche de piroplasmes. L'examen attentif de la lame se révèle cependant négatif.

Néanmoins, une telle AH, survenant à une période de recrudescence constatée de piroplasmose, impose la mise en oeuvre d'un traitement piroplasmicide : Dithionate de 4 - 4' diamidino diphenyléther associé à l'oxoméazine (oxopirvéidine N.B. 1 ml/kg).

On amorce par ailleurs un traitement symptomatique cholérétique : Trithioparamethox phénylpropène (SULFARLEM N.D) et extrait de Cynara Scolymus (CHOPHYTOL ND).

- Comme convenu, l'animal nous est ramené au J = 3 pour effectuer la 2ème injection de piroplasmicide.

Contrairement aux autres chiens, traités le même jour pour piroplasmose, son état, loin de s'améliorer s'est encore dégradé : l'anorexie persistante a induit un état de faiblesse et d'amaigrissement très importants. L'hyperthermie demeure constante (41° C). Les signes d'hémolyse persistent toujours, avec hémoglobinurie, urobilinurie, bilirubinurie, accentuation de la pâleur des muqueuses et superposition d'un sub-ictère. La splénomégalie est constante.

Nous décidons d'achever le traitement piroplasmicide bien que l'étiologie

parasitaire paraisse maintenant très improbable. C'est pourquoi nous réalisons ce jour, un TC sur lame avec notre AGC.

Le TGC se révèle très positif (+++). Nous réalisons également un TCI à partir du sérum du sujet mis en contact avec les GR provenant d'un pool de GR de chiens normaux : il est faiblement positif.

La mise en évidence d'IgG anti GR nous permet donc d'établir le caractère auto-immun de cette AH, dont l'étiologie reste à préciser.

- Nous revoyons donc ce chien le lendemain (J = 4). Comme c'était prévisible, aucune amélioration n'a suivi le 2ème traitement à l'oxopirvédine. L'hémolyse persiste toujours et la symptomatologie demeure inchangée. Nous instaurons sans attendre une thérapeutique à base de corticoïdes :

méthyl prednisolone	(Solumédrol ND	20 mg. IV)
	(Cortancyl ND	30 mg par jour)

Nous nous réservons d'adapter par la suite le traitement et de formuler un pronostic en fonction des résultats de l'hémoграмme.

Les données de l'hématologie sont consignées dans le tableau III.

Il faut noter de plus : une autoagglutination spontanée dans le tube hépariné, un TCD dont la forte positivité est constante.

On remarque sur le frottis sanguin une anisocytose marquée et la présence de nombreuses sphérocytes (cf. photo).

On procède par ailleurs à la recherche des Ac AN, dans l'hypothèse d'une étiologie lupique.

Des Ac AN de type homogène réticulé (c'est-à-dire donnant une fluorescence mixte des noyaux) sont détectés jusqu'à la dilution 1/64è.

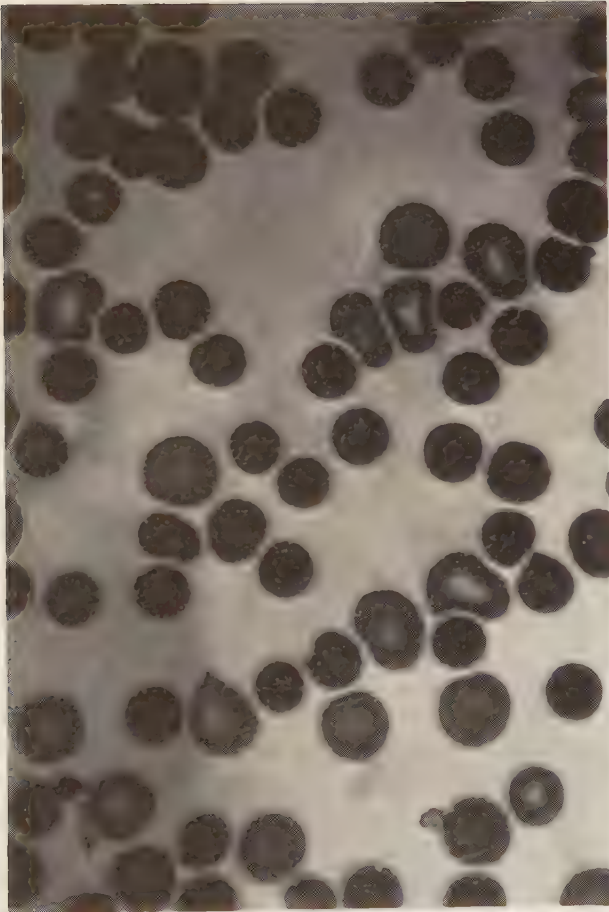
Le taux d'Ac AN est faible et permet d'éliminer l'existence d'un LED. On le rencontre fréquemment chez les animaux âgés, en dehors de tout état pathologique.

Les résultats traduisent une importante anémie de type normochrome et macrocytaire.

Cependant, le nombre élevé d'érythroblastes et de réticulocytes témoigne de son caractère régénératif et l'hématocrite demeure éloigné du seuil critique (15 - 20 %). Nous décidons donc qu'il n'est pas utile de procéder à une transfusion sanguine puisqu'elle n'est pas ici une condition absolue de survie.

Nous laissons l'animal sous la seule thérapeutique aux corticoïdes, en attendant sa prochaine visite.

- Au jour 7, le chien nous est à nouveau présenté. Nous constatons une amélioration très nette de son état général, qui a d'ailleurs débuté aux dires de la propriétaire, le soir même de l'administration des corticoïdes. L'animal s'est remis à manger et il est sorti de sa prostration. Il est vif et sa température rectale est revenue à la normale. Mais les muqueuses demeurent peu colorées et la splénomé-



Cas n° 1 - ($J = 4$). Anisocytose marquée
et présence de nombreux sphérocytes.

galie persistante, par contre l'analyse d'urine ne montre plus aucune anomalie.

Les résultats d'un nouvel hémogramme fait le jour-même, sont rapportées dans le tableau III.

L'anémie demeure donc toujours macrocytaire et normochrome, avec 1 VGM encore augmenté, avec une numération rouge sensiblement identique (compte tenu des erreurs de comptage).

C'est la raison pour laquelle on observe une légère remontée de l'hématocrite.

Par contre, la résistance globulaire semble encore diminuée, le pourcentage des réticulocytes est beaucoup plus faible et le TCD reste toujours très positif.

La très nette amélioration clinique, et, en particulier, la disparition des signes urinaires d'hémolyse nous amènent à poursuivre le même traitement, en effectuant fréquemment des bilans hématologiques.

- Nous en réalisons un du 3/3 (J = 12), à l'occasion d'une nouvelle visite de l'animal. Celui-ci a retrouvé un état général tout à fait satisfaisant.

Les muqueuses ont une coloration normale et on ne note plus de splénomégalie. (voir Tableau III).

On constate une remontée très nette de la numération rouge, de l'hématocrite et du taux d'Hb - La macrocytose est plus modérée, le pourcentage de réticulocytes est à nouveau élevé, mais la résistance globulaire demeure faible. Le TCD est moins fortement positif.

L'évolution favorable des données hématologiques parallèlement à celle de l'état général, nous semblent d'une bonne valeur pronostique.

Nous continuons donc le traitement en conservant la même posologie.

- Une nouveau bilan est effectué 5 jours plus tard (J = 17) (voir tableau III).

L'évolution la plus remarquable est la faible positivité du TCD. Par ailleurs, ce jour, la numération blanche est sensiblement redevenue normale.

- Lors d'une nouvelle visite du chien, deux semaines plus tard (J = 31), toutes les données de l'hémogramme sont sub-normales, à l'exception de la résistance globulaire encore faible.

Et surtout, le TCD est enfin négatif, pour la première fois après un mois d'évolution. (voir tableau III).

Nous entamons une diminution progressive de la posologie du Cortancyl, en la ramenant tout d'abord à 4 comprimés par jour (20 mg).

- Un contrôle, effectué le 5/4 (J = 45) montre que toute trace d'anémie a désormais disparu dans un hémogramme parfaitement normal. (voir tableau III).

Données hématologiques	Jours							
	j = 3	j = 4	j = 7	j = 12	j = 17	j = 31	j = 45	j = 75
TCD anti IgG	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
Numération GR		3 060 000	2 640 000	4 410 000	4 390 000	5 710 000	7 180 000	6 090 000
Numération GB		31 900	32 400	31 600	18 500	16 800	11 800	7 340
Hématocrite %		25	28	35	37	42	43	42
Hb/l		84	95	120	122	152	169	158
VGM (μ^3)		81,6	106	79,3	84,2	73,4	59,8	68,9
HCM μ g		27,4	35,9	27,2	27,7	26,5	23,5	25,9
CCMH %		33,6	33,9	34,2	32,9	31	39,3	37,6
Réticulocytes		20	32	20	6	3	2	1
Erythroblastes %		3	0	0	0	0	0	0
Résistance globulaire g/l		6,9 - 3,9	8,4 - 3	6,9 - 3,9	7,5 - 3,6	6,9 - 3,9	5,7 - 3,9	5,1 - 3,9
Formule blanche								
PN		75	79	80	85	66	50	70
N								
E		0	0	0	0	3	8	6
B		0	0	0	0	0	0	0
Lympho		20	10	17	13	24	35	23
Mono		4	1	5	2	7	6	1
Plaquettes				530 000	194 000	430 000	280 000	220 000

- Tableau III -

Nous poursuivons la réduction progressive des doses de corticoïdes, jusqu'à l'arrêt complet au bout de 3 semaines.

- Le 5/5 (J = 75), une semaine après l'interruption de tout traitement, la guérison sur le plan clinique et étiologique semble acquise (voir tableau III). Mais s'agit-il d'une guérison définitive ou d'une simple rémission ?

La conduite à tenir la plus raisonnable nous semble être une surveillance régulière de l'animal avec contrôles hématologiques systématiques, et reprise du traitement à la moindre alerte.

- Actuellement, 1 mois après l'arrêt de tout traitement, on ne nous a signalé aucune rechute.

. Cas n° 2 : "Manouche", croisée berger allemand femelle, 3 ans, appartenant à

Monsieur B... à Villeurbanne (69).

Cette chienne avait été présentée à la consultation en avril 77, car elle présentait des difficultés locomotrices et des douleurs articulaires.

L'observation clinique complète a été rapportée par C. FOURNEL - FLEURY dans sa thèse (15).

Le diagnostic porté était celui d'une polyarthrite lupique. Cette chienne, à cette époque, ne présentait pas d'anémie clinique et aucun TC n'avait été réalisé.

Sa polyarthrite lupique avait été traitée avec succès par les corticoïdes (CORTANCYL ND) relayés progressivement par le Lévarnisole (SOLASKIL ND). Un an après l'arrêt total du traitement, il n'y a pas eu de rechute et le taux des Ac AN a beaucoup diminué.

Cette chienne est suivie régulièrement par C. FOURNEL - FLEURY et M. LAPRAS. C'est en juin 1978, qu'à l'occasion d'un bilan hématologique, nous avons détecté un test de C positif.

(Résultats : voir tableau IV).

. Cas n° 3 - 4 : 2 chiots croisés berger allemand, 1 femelle L₁ (n° 3) et 1 mâle L₆

(n° 4), 10 mois, appartenant au Pr LAPRAS E.N.V.L..

Ces 2 chiots font partie de la portée de 6 obtenus par croisement de "Manouche" (notre cas n° 2) et d'un autre animal ayant présenté une polyarthrite lupique traitée avec succès : ATHOS (15).

Cette portée est l'objet actuellement d'un travail expérimental important sur l'hérédité, les mécanismes d'apparition du LED.

Titration d'Ac AN, dosages de thymosine, étude des différentes populations lymphocytaires sont régulièrement effectués par le laboratoire du Pr J.C. MONIER et les résultats sont très prometteurs.

C'est à M. LAPRAS et C. FOURNEL - FLEURY qui assurent la surveillance clinique et biologique de ces sujets (hématologie, biochimie...).

Aucun de ces chiots n'a encore présenté de signes cliniques de lupus.

C'est à l'occasion d'un bilan hématologique réalisé en mai 78 que les TC positifs ont été décelés chez ces 2 sujets, ainsi qu'une légère anémie chez l'un d'eux.

(Résultats : voir tableau IV.)

Il faut noter aussi que chez le chiot femelle (n° 3) il a été mis en évidence également des Ac antifacteurs de la coagulation (travaux du Dr M. PERRAUD).

Aucun de ces trois sujets (n° 2 - 3 - 4) n'a manifesté de signes cliniques d'anémie et d'hémolyse. Un seul (n° 3) a présenté une légère baisse de la numération rouge, mais l'hématocrite, le taux d'hémoglobine, la réticulocytose, la résistance globulaire n'ont pas été réalisés.

Aucun traitement n'a été réalisé sur ces animaux, et de plus pour les cas n° 3 et 4, il s'agit d'une étude expérimentale qu'un traitement pourrait perturber.

. Cas n° 5 et 6

cas n° 5 : Boxer mâle, 3 ans, appartenant à Monsieur R...

cas n° 6 : Dogue allemand mâle, 4 ans, appartenant à Monsieur C...

Il s'agit de deux sujets, amenés à la consultation au printemps 79, qui ont présenté une anémie hémolytique pour laquelle une étiologie parasitaire a été démontrée (présence de piroplasmes sur les frottis sanguins).

Les symptômes étaient ceux d'une A.H. : abattement, anorexie, pâleur des muqueuses, tachycardie... les urines étaient foncées.

Les examens biologiques confirmaient l'A.H.

(Résultats : voir tableau IV).

Nous avons réalisé sur ces deux animaux comme sur 48 autres chiens atteints de piroplasmose un TCD, qui s'est révélé faiblement positif.

Nous avons observé parallèlement une moindre efficacité du traitement piroplasmicide instauré (oxopirvédine).

Au vu des résultats du TCD, nous avons ajouté à celui-ci un traitement corticoïde (Cortancyl).

Malheureusement dans ces deux cas, nous n'avons jamais eu de nouvelles des résultats obtenus.

Données hématologiques	Cas	n° 2 Manouche	n° 3 (L ₁)	n° 4 (L ₆)	n° 5	n° 6
TCD anti IgG		++	+	+	(+)	(+)
Numération GR		6 500 000	4 890 000	6 520 000	2 240 000	3 350 000
Numération GB		9 600	12 200	15 200	29 900	41 800
Formule blanche %	PN	61	66	65	84	91
	N					
	E	4	7	0	3	0
	B	0	0	0	0	0
	Lympho	33	23	34	10	5
	Mono	2	4	1	3	4
Erythroblastes % GB					5	
Piropylasmes					+	+
Réticulocytes %					35	

- Tableau IV -

DISCUSSION

A - METHODE DE DIAGNOSTIC

1 - QUE DETECTE EXACTEMENT NOTRE AGC ? UTILISE POUR LE TC

- Notre réactif, nous l'avons vu est spécifiquement anti IgG de chien. Absorbé correctement, il ne donne pas de réactions faussement positives (nous l'avons vérifié sur des GR d'animaux sains, non revêtus d'IgG).

- Sa sensibilité est difficile à apprécier.

. On sait chez l'homme que le TC anti IgG n'est positif que lorsque le revêtement est suffisant : de 150 à 500 molécules d'IgG sont nécessaires à la surface d'une hématie pour son agglutination par des sérums anti, alors que 10 suffisent à réduire considérablement sa survie in vivo.

On estime généralement que le TCD méconnaît 2 à 5 % des AHAï par ailleurs authentifiés par l'absence d'autre cause d'hémolyse, le contexte clinique ou biologique et le succès de la corticothérapie (19).

On sait qu'il existe des techniques plus sensibles que le test de Coombs et en particulier les techniques d'agglutination non spécifique et réversible créée par les polycathions (polymère, polybrène, protamine).

Mais ces techniques ne donnent de bons résultats que lorsqu'elles sont automatisées (technique au polybrène, et nous ne disposons pas d'un tel appareillage).

. Il faut noter aussi que nous réalisons nos TC sur lame : cette méthode est un peu moins sensible que la technique en tube, mais nous trouvons sa lecture plus commode.

Notre AGC détecte donc un revêtement d'IgG à la surface des hématies, si ce revêtement est suffisant.

2 - LES IgG REVELEES PAR NOTRE AGC SONT-ELLES FORCEMENT DES AUTO-Ac ?

Les auto-Ac ne sont pas seuls à pouvoir revêtir les GR. Les IgG décelées par l'AG ne peuvent être que des allo-Ac passifs ou faire partie d'immuns complexes liés aux globules par immuno adhérence (hémolyses allergiques) ou être des Ig banales agrégées par des drogues (19).

Ce contexte (clinique, biologique) du TC positif est bien sûr important pour préjuger d'une étiologie auto-immune. Mais pour avoir la certitude absolue que les Ig revêtantes sont bien des auto-Ac, il faut pouvoir prouver qu'ils sont bien dirigés contre des Auto-Ag et donc déterminer ces Ag : Pour cela, il faut réaliser une élution (voir I). Nous avons vu pourquoi ceci n'est pas réalisable chez le chien actuellement.

3 - NOTRE REACTIF DETECTE-T-IL TOUS LES TYPES D'AHAI ?

Il est important de se rappeler qu'il existe des AHAI à IgM, IgM + C, C que notre AGC est incapable de diagnostiquer.

Nous ne disposons donc d'un AGC capable de détecter environ 95 % des AHAI de type IgG, c'est-à-dire à peu près la moitié des AHAI du chien (selon SLAPPEN-DEL (42)).

B - CHOIX DES ANIMAUX

- Nous avons réalisé de façon systématique des TCD sur des animaux présentant des AH, même lorsque nous avons mis en évidence une étiologie parasitaire (piroplasmose). En effet, différents auteurs ont parlé de complications possibles des piroplasmoses par des phénomènes d'auto-immunité.

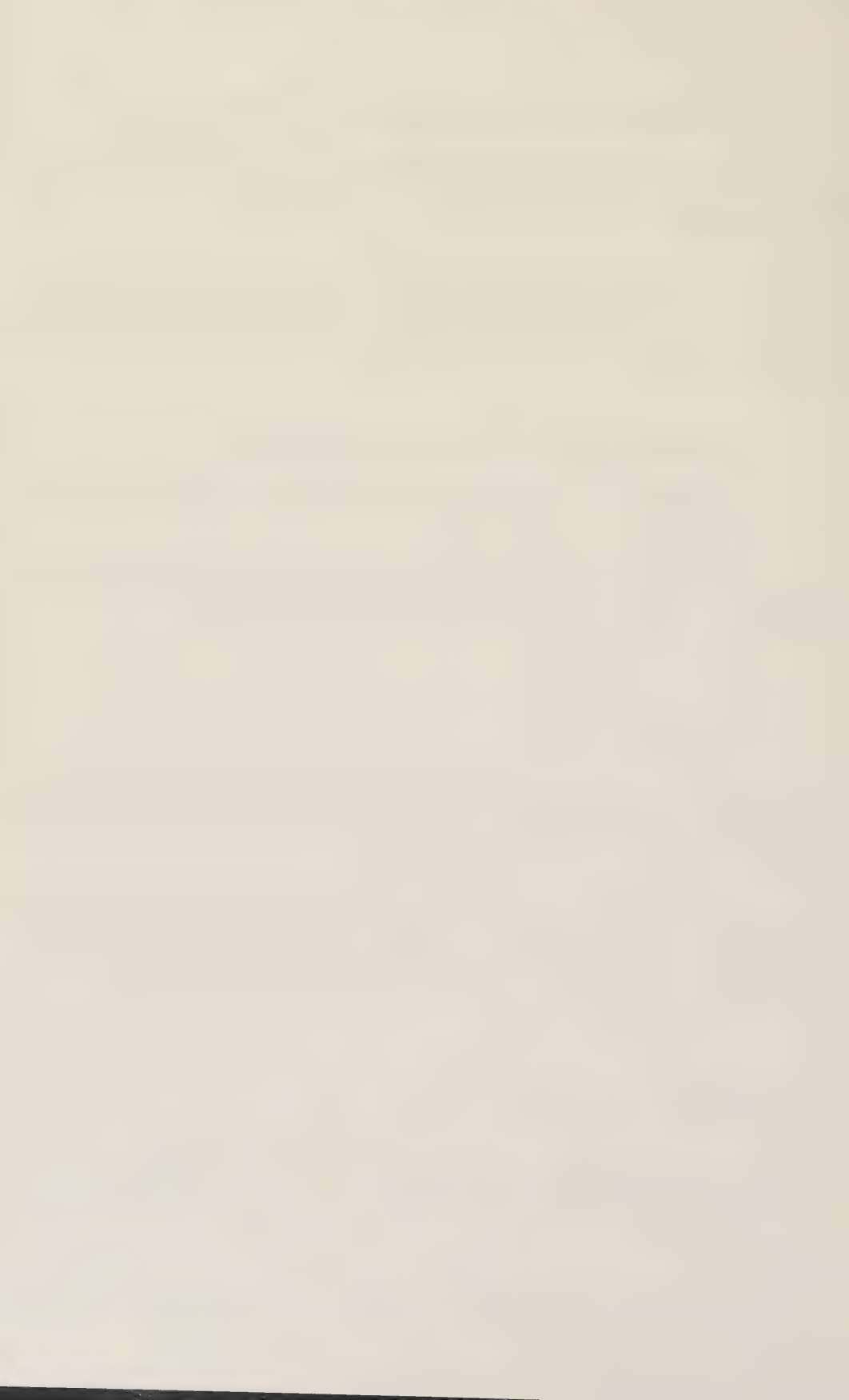
- Nous avons également effectué un certain nombre de TCD sur des animaux apparemment sains, pour détecter d'éventuelles AHAI infracliniques, et sur des sujets présentant des symptômes de maladies pouvant être accompagnées d'AHAI. A ce propos, notre investigation a peut-être été trop restreinte, se limitant surtout du LED. En effet chez l'homme, on sait que les AHAI peuvent accompagner de nombreuses maladies.

C - INTERPRETATION DES RESULTATS

Avec notre AGC, nous avons mis en évidence 6 TCD positifs chez 6 animaux présentant des AH confirmées. Que pouvons-nous en conclure, en tenant compte des remarques précédentes et des connaissances acquises sur les AHAI du chien ?

. Cas n° 1

Nous rapportons ici un cas d'AH d'apparition brutale survenant chez un jeune



animal (17 mois). Elle s'est manifestée par une asthénie profonde avec hyperthermie, par une décoloration des muqueuses, une splénomégalie et les signes urinaires d'une hémolyse intense.

Les examens hématologiques ont montré une anémie importante régénérative, macrocytaire, normochrome accompagnée de leucocytose.

Il faut noter particulièrement : les TCD et TCI positifs, une autoagglutination spontanée dans le tube, une résistance globulaire diminuée, la présence de sphérocytes sur les frottis (dont nous avons vu la signification chap. I).

Le seul traitement efficace a été la corticothérapie. Aucune autre étiologie possible n'a pu être mise en évidence.

Tous ces éléments sont en faveur d'une étiologie auto-immune.

D'autre part, aucun autre symptôme ou signe biologique évocateur d'une maladie sous-jacente n'a pu être observé à ce jour.

Nous pensons donc que tous ces éléments sont suffisants pour conclure à un cas d'AHAI idiopathique.

. Cas n° 2 - 3 - 4

Le cas n° 2 est une chienne qui a présenté un LED qui a été traité et qui est actuellement en rémission clinique.

Les deux chiots (cas n° 3 - 4) issus de parents lupiques doivent théoriquement développer un lupus au cours de leur vie. Ils présentent déjà des perturbations biologiques dans ce sens, et chez l'un d'eux on a déjà mis en évidence un autre type d'auto-Ac.

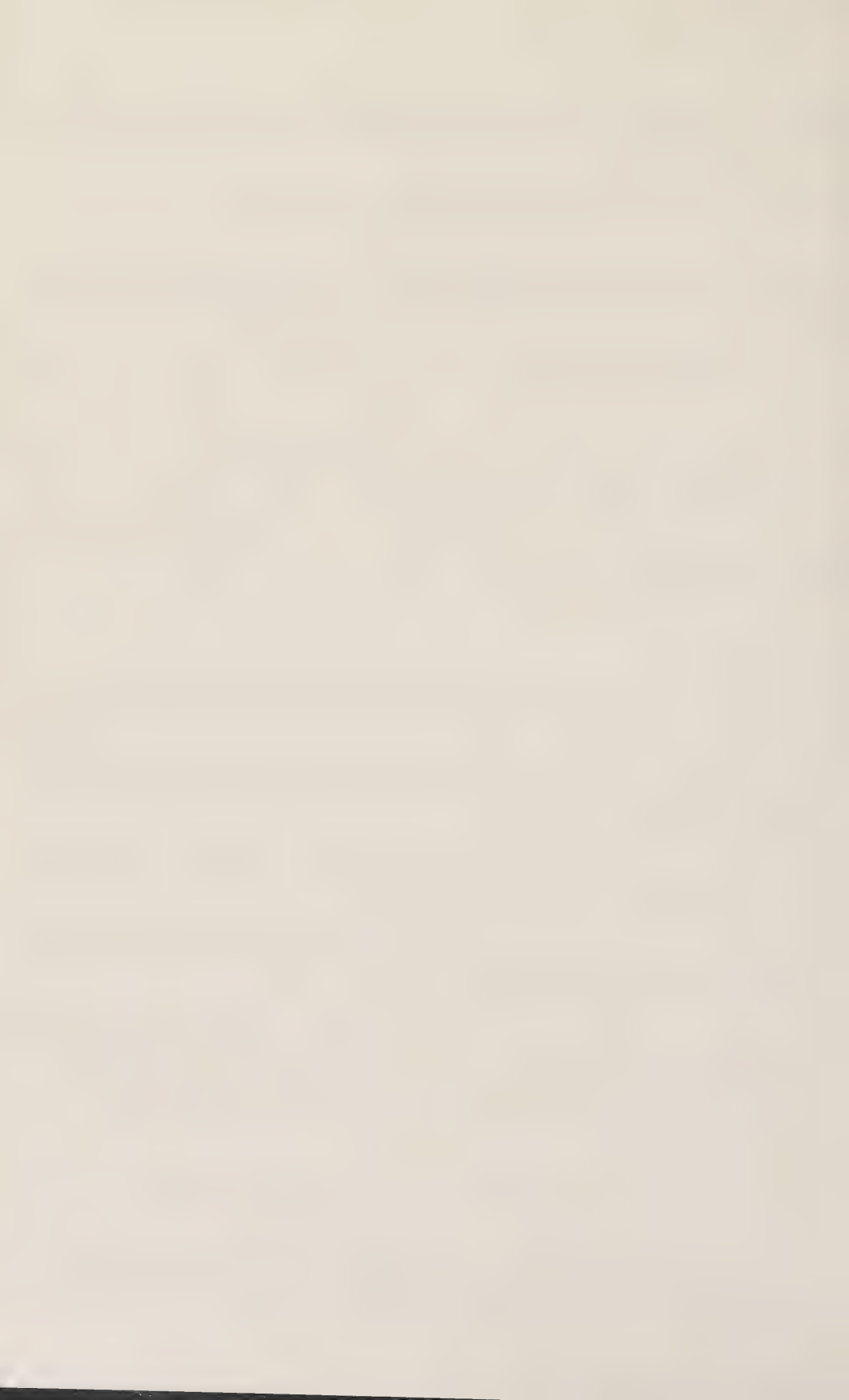
Or on sait que le LED est une maladie AI multi systémique au cours de laquelle on peut révéler de nombreux types d'auto-Ac.

Nous pensons donc que ces trois sujets présentent une AHAI associée au LED, ce qui est tout à fait classique chez le chien (25) (26) et surtout dans le syndrome lupique à Ac AN homogènes (30).

Nous parlons d'AHAI, alors qu'il n'y a même pas d'anémie biologique pour deux des sujets et que l'hémolyse n'a pas été recherchée. On sait que l'anémie peut être compensée et l'hémolyse discrète, mais il est théoriquement nécessaire de prouver cette hémolyse pour pouvoir porter le diagnostic d'AHAI. Pratiquement ceci n'est pas toujours réalisé : Slappendel (42) par exemple ne démontre pas l'hémolyse dans ses 128 cas d'AHAI : il se base sur une anémie et sur le TCD positif.

Cette étude reste trop partielle. Mais nous pensons la poursuivre et la compléter.

Nous continuerons à surveiller l'évolution biologique et clinique de ces sujets (et des autres chiots de la portée). Chez ces chiots qui n'ont pas présenté de TCD positif, nous pensons utiliser la technique au polybrène, plus sensible pour détecter éventuellement un revêtement d'auto-Ac.



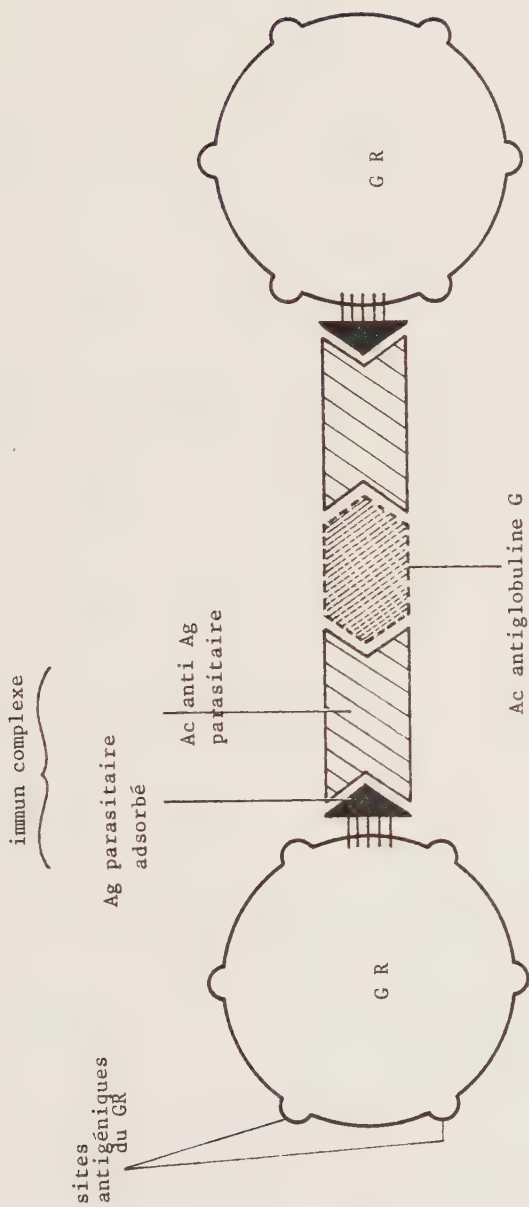


Schéma n° 4 - Hypothèse dans le cas des complications de nature immunologique de la piroplasmose.



Ces deux animaux ont présenté une AH clinique et biologique. Dans les deux cas, une étiologie parasitaire (piroplasmose) a été mise en évidence de façon certaine. Dans ces deux cas, le TCD a été faiblement positif et l'efficacité du traitement piroplasmicide n'a pas été spectaculaire.

Ces éléments restent bien partiels. Nous n'avons pas pu suivre l'évolution du TCD ni les résultats du traitement des corticoïdes.

Ces deux cas nous font évoquer, bien sûr, les théories de certains auteurs évoquant la possibilité de complications auto-immunes de la piroplasmose canine (par modification des Ag de surface des hématies par le parasite ?).

Ceci ne va pas dans le sens des conceptions actuelles des mécanismes de l'auto-immunité.

Nous donnerons ici une explication vraisemblable mais qui reste parfaitement hypothétique :

Le TCD positif ne serait pas dû ici, à des auto-Ac. Mais notre réactif anti IgG détecterait des Ac faisant partie de complexes immuns adsorbés à la surface des globules : Ag parasitaire - Ac anti Ag parasitaire (IgG, mais n'ayant rien à voir avec de véritables auto-Ac). (cf. schéma n° 4).

Ceci reste à démontrer. Nous essaierons de le faire si d'autres cas se présentent (par élution des éventuels complexes, identification de l'Ag parasitaire...)

A travers cette étude, nous pensons donc avoir détecté quatre cas d'AHAI à IgG chez le chien.

- | 1 AHA1 idiopathique
- | 3 AHA1 associées au LED.

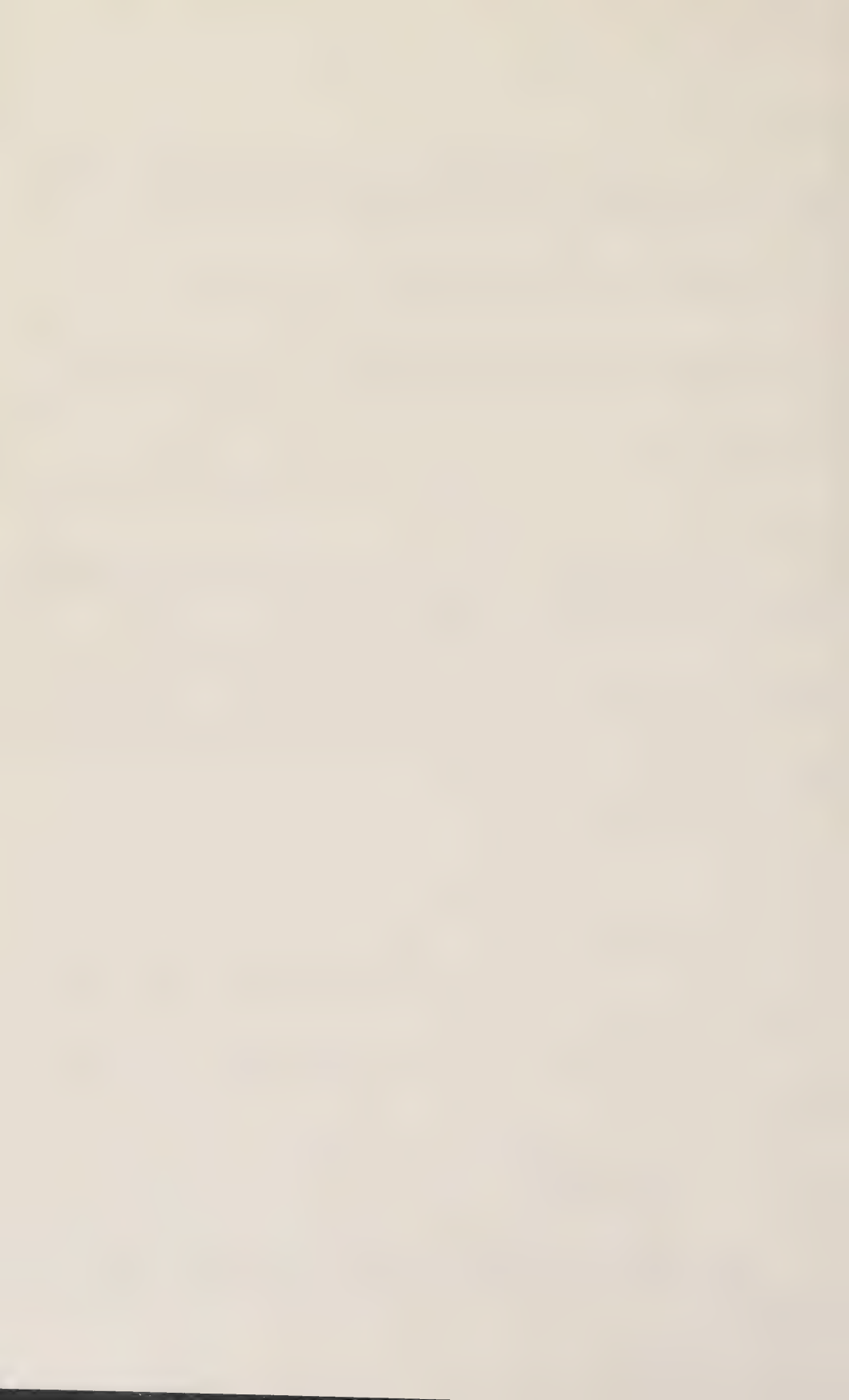
D - PATHOLOGIE COMPAREE

Nos résultats concordent-ils avec ce qui est connu chez l'homme et chez le chien, à propos des AHA1 de type IgG ?

- En médecine humaine, la classification immunologique actuelle distingue les types suivants :

- type IgG
- types mixte (IgG + C)
- type complément
- type agglutinines froides (IgM + C)

A ces différents types sérologiques semblent correspondre un tableau clinique particulier, des étiologies, des indications de traitement, un pronostic éventuellement.



On oppose surtout les formes à auto-Ac, anti IgG (type IgG ou mixte), où l'hémolyse est lente et progressive, la séquestration des hématies essentiellement splénique, la corticothérapie efficace et qui sont des formes idiopathiques dans 50 % des cas, aux formes de type complément, non IgG, où l'hémolyse est irrégulière, la séquestration des hématies diffuse (foie, moelle osseuse), la corticostabilité faible ou nulle, et où une étiologie virale ou lymphoréticulaire maligne est souvent démontrée.

Cette distinction, si elle est un peu schématique (19) a l'intérêt d'être très claire.

- En médecine canine, nous l'avons vu, SLAPPENDEL (42) le premier classe ses 128 cas d'animaux à TCD positif en fonction de leur type immunologique (car il possède une gamme complète d'antisérums). Le nombre élevé de ses observations lui permet de tirer de son étude des valeurs chiffrées qui donnent une idée de la fréquence de ces différents types, de leur étiologie, clinique, pronostic. Certains de ces résultats sont comparables à ce qui est connu chez l'homme : Il note par exemple que les types IgG (pur ou mixte) sont dans 50 % des cas, idiopathiques, alors que les types C sont généralement associés à une maladie sous-jacente.

Il nous semble regrettable cependant qu'il ne tire pas davantage d'informations d'un matériel aussi abondant (âge, race, sexe, traitements utilisés et leur efficacité, évolution, maladies sous-jacentes associées...).

- Notre observation n° 1 nous semble une illustration typique, du point de vue clinique, thérapeutique, étiologique d'une AHAI de type IgG, pure ou mixte, telle qu'elle est décrite chez le chien, et surtout chez l'homme.

- En ce qui concerne nos cas n° 2 - 3 - 4, nos observations sont encore trop partielles (pas de symptômes observés, pas de traitement effectué...). Mais on sait chez l'homme que les AHAI associées au LED sont généralement de type IgG (pur ou mixte) (38).

E - NOS OBJECTIFS

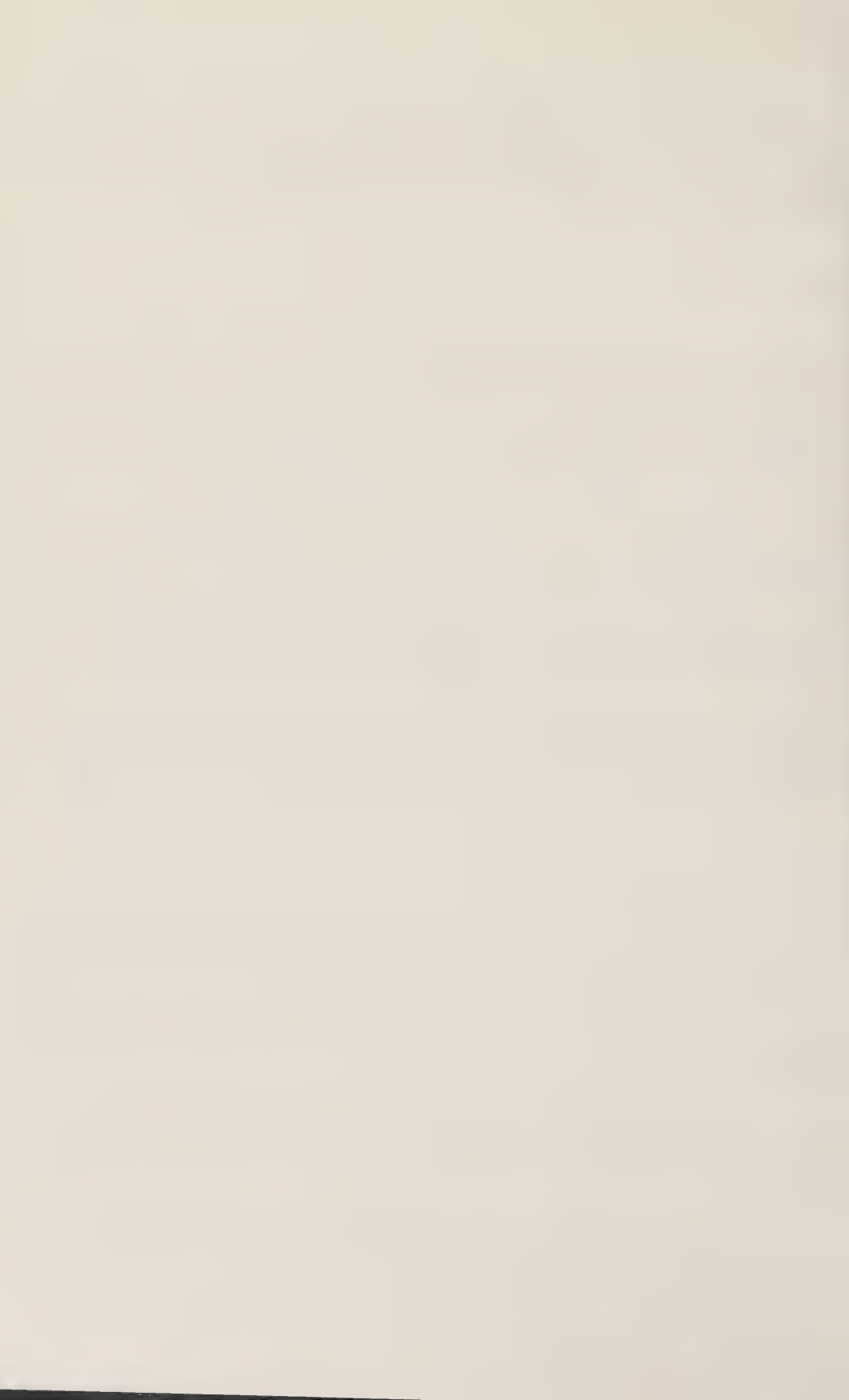
A la lumière de la discussion précédente, il apparaît que notre antiglobuline G de chien est bien insuffisante pour détecter tous les types d'AHAI du chien.

Notre objectif est de replacer dans une gamme satisfaisante d'AGC (antisérum total, anti IgG, anti C, anti IgM, anti IgA) comme celle dont dispose SLAPPENDEL.

Nous possédons déjà un antisérum total brut, qu'il nous faut absorber. Il est surtout nécessaire de préparer un sérum anticomplément, et c'est notre projet actuel (les anti IgM sont très difficiles à obtenir et les AHAI à IgA semblent très rares).

Ainsi, en effectuant une investigation très large sur tous les animaux présentant des AH ou des symptômes de maladies pouvant être associées, nous serons à même de détecter la majorité des cas d'AHAI du chien, et de les classer en fonction de leur type immunologique.

C'est à cette condition, à notre avis, que peut continuer à progresser la connaissance des AHAI du chien.



CONCLUSIONS

Les connaissances actuelles concernant les anémies hémolytiques auto-immunes du chien permettent de considérer qu'environ 30 % d'entre elles sont idiopathiques tandis que 70 % sont secondaires ou associées à une maladie sous-jacente.

Ces anémies s'expriment essentiellement par une hémolyse d'intensité variable, induisant une anémie plus ou moins prononcée. Ceci conduit à un tableau clinique polymorphe, d'autant plus qu'il peut être compliqué par des symptômes cutanés dans le cas particulier des AHAI à agglutinines froides, et éventuellement par les symptômes d'une maladie sous-jacente associée.

Les signes biologiques sont ceux d'une anémie hémolytique régénérative normochrome, normocytaire ou légèrement macrocytaire. On note fréquemment la présence de sphérocytes et une résistance globulaire diminuée.

Le caractère auto-immun est essentiellement prouvé par la positivité du test de COOMBS direct.

En fonction des résultats du test de COOMBS, on distingue les types immunologiques suivants : AHAI de type IgG, IgG + C (mixte), IgM + C, C et IgA.

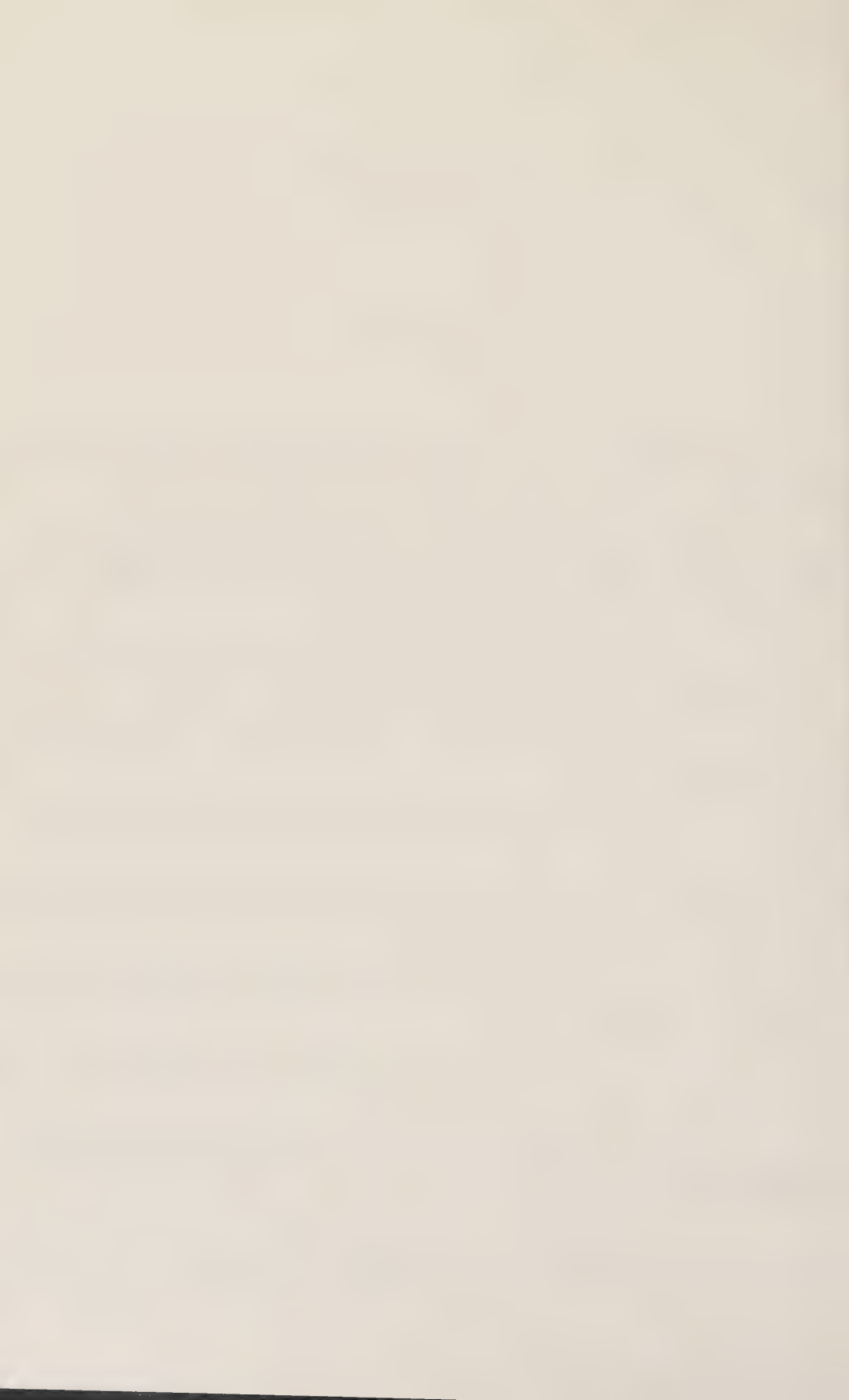
Ayant personnellement mis au point un réactif anti IgG de chien adapté au test de COOMBS, nous avons pu détecter quatre cas authentiques d'AHAI dont un cas d'AHAI idiopathique et trois cas d'AHAI associés au LED.

Dans d'autres cas, nous avons mis en évidence des IgG appartenant vraisemblablement à des immuns complexes adsorbés sur les globules rouges, venant compliquer et aggraver la piroplasmose canine.

Suivant les bases actuelles de la classification des AHAI adoptée chez l'homme l'un de nos cas est une illustration typique d'une AHAI de type IgG.

Le réactif anti IgG dont nous disposons est fiable mais n'est capable de détecter qu'une partie des AHAI du chien (environ 50 %). Nous poursuivons actuellement nos recherches pour obtenir une gamme de réactifs permettant l'identification des autres types d'AHAI du chien.

Si les connaissances relatives aux AHAI du chien empruntent une grande part de leurs éléments à la pathologie humaine, on peut penser qu'en retour des progrès



intéressants pourront être obtenus grâce à l'étude du modèle animal, notamment dans les domaines étiologique, pathogénique, et dans le traitement des phénomènes d'auto-immunité, thème passionnant de l'immunologie moderne.

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire,

M. LAPRAS

VU, le Directeur de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Lyon,

Ph. COTTEREAU

LE PRESIDENT DE LA THESE,

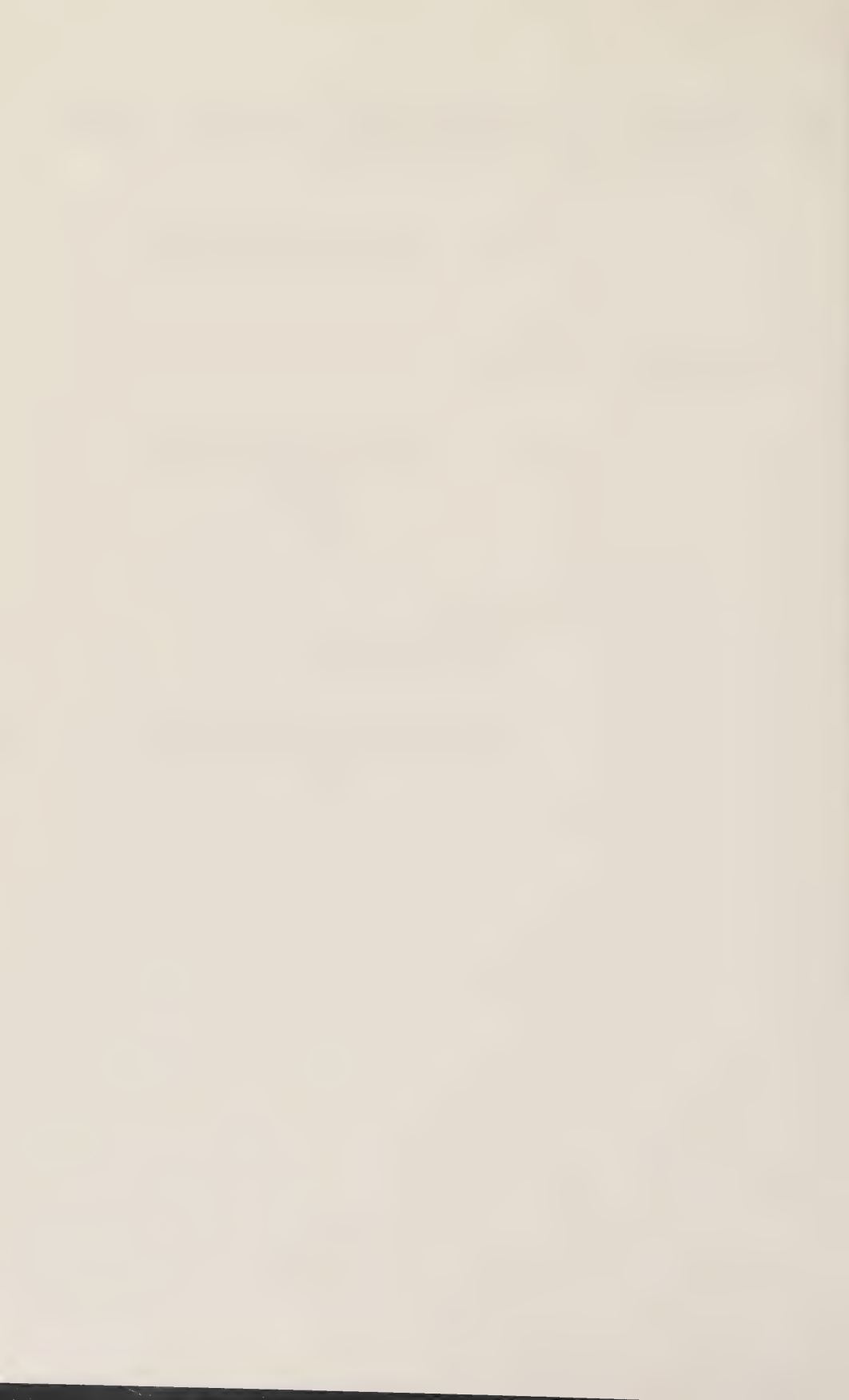
J. FAVRE-GILLY

VU et PERMIS d'IMPRIMER

LYON, le 2 octobre 1979

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE LYON I :

D. GERMAIN



BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BELLAMY J.E.C., MAC WILLIAMS P.S., SEARCY G.P.
Cold-Agglutin Hemolytic Anemia and Haemobartonella canis infection
in a dog.
J.A.V.M.A. (1978), 173, 4, 397-401.

- 2 - BULL R.W.
Auto-immune hemolytic anemia.
Current Veterinary therapy. KIRK R.W. ed., 1977, W.B. SAUNDERS,
431-433.

- 3 - BULL R.W., SCHIRMER R., BOWDLER A.J.
Auto-immune hemolytic disease in the dog.
J.A.V.M.A. (1971), 159, 880-884.

- 4 - BUNDZA A., LUMSDEN J.H., Mc SHERRY B.J. and al.
Haemobartonellosis in a dog in association with Coombs' positive
anemia.
Can. Vet. J. (1976), 17, 267-270.

- 5 - CARROLL E.J.
Auto-immune hemolytic anemia in the dog.
Calif. Vet. (1964), 18, 2, 29-30.

- 6 - CASSAN V.
Introduction à l'étude des maladies avec auto-anticorps chez le chien.
Th. Doct. Vet., Lyon (1968).

- 7 - CHAPPUIS G., TERRE J.
Les groupes sanguins et la transfusion sanguine chez le chien.
Rec. Med. Vet. (1970), 146, 671-676.

Transfusion sanguine dans les affections ictérogènes du chien.
L'animal de Compagnie (1975) 10, 6.

- 9 - COOMBS R.R.A., MOURAND A.E., RACE R.R.

A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins.
Brit. J. Exp. Path. (1945), 26, 255.

- 10 - DEAR M.G.

Clinical aspects of autoimmunity in animals.
J. small. Anim. Pract. (1970), 11, 685-696.

- 11 - DEBUE J.F.

Les anémies hémolytiques auto-immunes de l'adulte et leur devenir
(à propos de 107 observations).
Th. Doct. Méd. Lyon 1978.

- 12 - DEPELCHIN A.

Un cas d'anémie hémolytique acquise chez un chien.
Ann. Med. Vét. (1957), 101, 61-73.

- 13 - DEPELCHIN A.

Anémie hémolytique aiguë : un nouveau cas chez le chien.
Ann. Méd. Vét. (1958), 102, 523-528.

- 14 - DODDS W.J.

Auto immune hemolytic disease and other causes of immune mediated
anemia : An overview.
J.A.A.H.A. (1977) 13, 437-441.

- 15 - FOURNEL - FLEURY C.

Contribution à l'étude des polyarthrites lupiques chez le chien.
Th. Doct. Vét., Lyon (1978).

- 16 - GREENE C.E., KRISTENSEN F., HOFF E.J., WIGGINS M.D.

Cold hemagglutinin disease in a dog.
J.A.V.M.A. (1977), 170, 505-510.

- 17 - JAIN N.C.

Auto-immune hemolytic anemia : a brief review.
Canine Pract. (1975) 2, 30-35.

- 18 - JOHNSON J.S., VAUGHAN J.H.
Canineimmunoglobulins.
1/ Evidence for six immunoglobulin classes.
J. Imm. (1967), 98, 923.
- 19 - JOUVEANCEAUX A.
Immunohématologie
SIMEP ed., 1978, 143-150.
- 20 - LAPRAS M., MONIER J.C.
Technique d'immunofluorescence appliquée au diagnostic des maladies auto-immunes chez le chien. Résultats cliniques.
Rev. Méd. Vet. (1971), 122, 10, 973-989.
- 21 - LAPRAS M., OUDAR J.
Connaissances actuelles sur les maladies auto-immunes des animaux.
Inf. Med. Vet. (1971), 213, 236-276.
- 22 - LAPRAS M., THIVOLET J., CASSAN V.
Les maladies auto-immunes. Données actuelles et recherches en cours.
Rev. Méd. Vét. (1969), 120 (8-9), 765.
- 23 - LENOIR G.
Contribution à l'étude des maladies avec auto-anticorps dans différentes espèces animales.
Th. Doct. Vét. Paris (1969).
- 24 - LEWIS H.B.
Management of anemia in the dog and cat.
Current Veterinary therapy, KIRK R.W. ed., 1977, 421-430.
W.B. SAUNDERS.
- 25 - LEWIS R.M., HENRY W.B., THORTON G.W., GILMORE C.F.
A syndrome of auto immune hemolytic anemia and thrombocytopenia in dogs.
Sci. Proc., N.Y. City, 100th Annual Meeting Am. Vet. Med. Assoc. (1963), 140-163.
- 26 - LEWIS R.M., SCHWARTZ R., HENRY W.B.
Canine systemic lupus erythematosus.
Blood J. Hematol. (1965), 25 (2), 143-160.

- 27 - MACKENZIE C.P.
Idiopathic (acquired) hemolytic anemia, in the dog.
Vet. Rec. (1969), 85, 356-361.
- 28 - MILLER G., SWISHER S.N., YOUNG L.E.
A case of auto immune hemolytic anemia in a dog.
Clin. Res. Proc. (1954), 2, 60-61.
- 29 - MILLER G., FURTH F.W., SWISHER S.N., YOUNG L.E.
Studies on destruction of red blood cells by canine auto antibodies in normal dogs and in a dog with naturally occurring auto immune hemolytic disease.
Am. J. Dis. Children (1957), 93, 35-36.
- 30 - MONIER J.C., FLEURY C., SCHMITT D., PERRAUD M., GIOUD M., VIAL J., LAPRAS M., SEPETJIAN M.
Les anticorps antinucléaires chez le chien. Intérêt de leur recherche pour porter le diagnostic de maladie lupique.
Rev. Inst. Past. Lyon (1977), 1, 61-77.
- 31 - MONIER J.C., THIVOLET J., SEPETJIAN M.
Analog es animaux du lupus érythémateux aigu disséminé (LEAD). Déductions étiologiques et pathogéniques sur le LEAD humain.
Lyon Médical (1972) 227 (5), 413-422.
- 32 - OLLEON C.
Le test à l'antiglobuline chez le chien.
Mémoire d'hématologie. C.E.S. Biologie Humaine, LYON 1977.
- 33 - PERSON J.M.
Le système immunitaire du chien.
Rec. Méd. Vét. (1978) 154 (6), 507-522.
- 34 - PERSON J.M.
Apport du laboratoire d'immunologie au diagnostic des maladies dues à des processus immunopathologiques chez le chien.
Rec. Méd. Vét. (1978) 154 (6), 601-613.
- 35 - POUCHOLON J.L.
Les anémies hémolytiques auto-immunes du chien.
Rec. Méd. Vet. (1978), 154 (6), 577-579.

- 36 - QUINTIN - COLONNA F.
Immunopathologie du chien.
Rec. Méd. Vét. (1978), 154, (6), 563-569.
- 37 - ROCHANT H.
Anémie hémolytiques auto immunes
LE SANG, B. DREYFUS ed., 1971, Flammarion Médecine, 462-471.
- 38 - SALMON C.
Les anémies hémolytiques auto-immunes.
Immunologie, J.F. BACH ed., 1979, Flammarion Médecine Sciences, 719-742.
- 39 - SCHALM O.W.
Veterinary Hematology 2^e ed., 1965
Philadelphia, Lea and Febiger ed.
- 40 - SCHALM O.W.
Auto immune hemolytic anemia in the dog.
Canine practice (1975), 37-45.
- 41 - SLAPPENDEL R.J., VAN ERP C.L.G.M., GOUDSWAARD J., BETHLEHEM M.
Cold hemagglutinin disease in a toy pinsher dog.
Tijdschr. Diergenesk (1975), 100 (8), 445-460.
- 42 - SLAPPENDEL R.J.
Some clinical aspects of canine immunohaematology.
Proceedings 6th World Congress of the World small animal veterinary association. Amsterdam, 1977.
- 43 - UTROSKA B.
Auto immune hémolytic anemia associated with lupus erythematosus.
Veterinary Medecine. Small animal clinician, 1976, 71 (9), 1247-1249.
- 44 - VAERMAN J.P., HEREMANS J.F.
The immunoglobulins of the dog.
1/ Identification of canine immunoglobulins homologous to human IgA and IgM.
Immunochemistry (1968), 5, 425.

- 45 - WILKINS R.J., HURVITZ A.L., DODDS - LAFFIN J.
Immunologically mediated thrombocytopenia in the dog.
J.A.V.M.A. (1973), 163, 277.
- 46 - WILLIAMS W.J., BEUTLER E., ERSLEV A.J., RUNDLES R.W.
Erythrocytic disorders anemias due to increased erythrocyte destruction mediated by antibodies.
Hematology, 1972, WILLIAMS W.J. and al. ed., Mac GRAW-HILL BOOK Co, New-York, 486-510.
- 47 - YOUNG L.E., O'BRIEN W.A., SWISHER S.N., MILLER G., YUILE C.L.
Blood groups in dogs. Their significance to the veterinarian.
Am. J. Vet. Ass. (1952), 13, 207-213.

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	1
I - LES AHAI DU CHIEN : HISTORIQUE - CONNAISSANCES ACTUELLES. . . .	2
A - Historique	2
B - Etat actuel des connaissances sur les AHAI du chien.	4
1 - Etiologie.	4
2 - Pathogénie	5
3 - Classification	6
4 - Manifestations cliniques	6
5 - Données du laboratoire	7
a/ signes hématologiques	7
b/ signes biochimiques	8
c/ test d'hémolyse	8
d/ tests isotopiques	8
e/ tests immunologiques (test de Coombs (élu­tion (étude des sérums.	8
f/ examen histopathologique.	10
6 - Diagnostic	11
7 - Pronostic.	11
8 - Principes de la thérapeutique.	11
II - PREPARATION D'UN SERUM ANTIGLOBULINE G DE CHIEN ADAPTE AU TEST DE COOMBS - APPLICATIONS POSSIBLES.	13
A - Préparation de l'antiglobuline de chien.	13
1 - La préparation sur animal.	13
2 - Choix justifié d'un système de référence	14
3 - Premier titrage de l'AGC	16
4 - Absorption de l'AGC.	19
5 - Deuxième titrage de l'AGC après absorption . . .	19
B - Applications possibles	23

III - APPLICATION DE NOTRE AGC AU DIAGNOSTIC DES AHAI DU CHIEN -	
OBSERVATIONS CLINIQUES	24
A - Techniques utilisées	24
1 - Test de Coombs direct.	24
2 - Test de Coombs indirect.	25
B - Choix des animaux - nos résultats.	26
C - Observations cliniques et résultats biologiques.	27
IV - DISCUSSION	34
A - Méthode de diagnostic.	34
B - Choix des animaux.	35
C - Interprétation des résultats	35
D - Pathologie comparée.	38
E - Nos objectifs.	39
CONCLUSIONS	40
BIBLIOGRAPHIE.	42

